

ACADÉMIE D'ORLÉANS-TOURS

UNIVERSITÉ DE TOURS

FACULTE DE PHARMACIE « Philippe-Maupas »

Année 2023-2024

N° ...3...

THÈSE D'EXERCICE
pour le
DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Par

Clément Etienne BION

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 17 JANVIER 2024

**Fibrillation auriculaire : Vers un isolement des veines pulmonaires de
l'oreillette gauche par une approche pharmacologique ?**

JURY

Président :

Pierre BREDELOUX – Docteur en pharmacie & Maître de conférences à l'université François
Rabelais - TOURS

Membres :

Côme PASQUALIN - Docteur en pharmacie & Maître de conférences à l'université François
Rabelais - TOURS

Jordan CHALLIER – Docteur en pharmacie - PARIS

Madeline CHENOFFE – Docteur en pharmacie – NEUILLE-PONT-PIERRE

ANNEE : 2023 - 2024

Directeur : Pr Denys BRAND

Directeur Adjoint : M. Matthieu JUSTE

Assesseurs : M. Gildas PRIE, Mme Mélanie BOUVIN PLEY, Mme Emilie ALLARD-VANNIER, M. Bruno GIRAudeau, Mme Claire POUPLARD, Mme Audrey OUDIN

ENSEIGNANTS

14 PROFESSEURS D'UNIVERSITÉ

ALLARD-VANNIER	Emilie	PHARMACIE GALENIQUE
ALLOUCHI	Hassan	CHIMIE PHYSIQUE
BOUDESOCQUE-DELAYE	Leslie	PHARMACOGNOSIE
BRAND	Denys	MICROBIOLOGIE
BRAIBANT	Martine	MICROBIOLOGIE
CHEVALIER	Stéphane	BIOCHIMIE GENERALE & BIOTHERAPIE
CHOURPA	Igor	CHIMIE ANALYTIQUE
CLASTRE	Marc	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
DIMIER-POISSON	Isabelle	PARASITOLOGIE & MYCOLOGIE MEDICALES, IMMUNITE ANTI-INFECTIEUSE
ENGUEHARD-GUEIFFIER	Cécile	CHIMIE THERAPEUTIQUE
MAHEO	Karine	PHYSIOLOGIE
MAUPOIL-DAVID	Veronique	PHARMACOLOGIE
MUNNIER	Émilie	PHARMACIE GALENIQUE
VIAUD-MASSUARD	Marie-Claude	CHIMIE ORGANIQUE

6 PROFESSEURS D'UNIVERSITÉ ET PRATICIENS HOSPITALIERS

ANTIER	Daniel	PHARMACIE CLINIQUE
ARLICOT	Nicolas	BIOPHYSIQUE & BIOINFORMATIQUE
EMOND	Patrick	BIOPHYSIQUE & BIOINFORMATIQUE
GIRAudeau	Bruno	SANTÉ PUBLIQUE, BIostatistique & ÉPIDÉMIOLoGIE
LANOTTE	Philippe	MICROBIOLOGIE
POUPLARD	Claire	HEMATOLOGIE

2 PROFESSEURS ÉMERITE

BARIN	Francis	MICROBIOLOGIE
THIBAUT	Gilles	IMMUNOLOGIE

35 MAITRES DE CONFÉRENCES

AUBREY	Nicolas	BIOCHIMIE GENERALE & BIOTHERAPIE
BESSON	Pierre	PHYSIOLOGIE
BIRER-WILLIAMS	Caroline	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
BONNIER	Franck	CHIMIE ANALYTIQUE
BORDY	Romain	PHARMACOLOGIE & TOXICOLOGIE
BOUVIN-PLEY	Mélanie	MICROBIOLOGIE
BREDELOUX	Pierre	PHARMACOLOGIE
DAVID	Stéphanie	PHARMACIE GALENIQUE
DEBIERRE-GROCKIEGO	Françoise	PARASITOLOGIE & MYCOLOGIE MEDICALES, IMMUNITE ANTI-INFECTIEUSE
DELAYE	Pierre-Olivier	CHIMIE THERAPEUTIQUE
DENEVAULT	Caroline	CHIMIE THERAPEUTIQUE
DOUZIECH-EYROLLES	Laurence	AFFAIRE REGLEMENTAIRE ET MANAGEMENT DE LA QUALITE
DUMAS	Jean-François	BIOCHIMIE GENERALE ET BIOTHERAPIE
GERMON	Stéphanie	PARASITOLOGIE & MYCOLOGIE MEDICALES, IMMUNITE ANTI-INFECTIEUSE
GLEVAREC	Gaëlle	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
HERVE-AUBERT	Katell	CHIMIE ANALYTIQUE

JUSTE	Matthieu	PARASITOLOGIE & MYCOLOGIE MEDICALES, IMMUNITE ANTI-INFECTIEUSE
LAJOIE	Laurie	IMMUNOLOGIE
LANOUE	Arnaud	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
MARC	Jillian	BIOMOLECULES ET BIOTECHNOLOGIES VEGETALES
MAVEL	Sylvie	CHIMIE THERAPEUTIQUE
LOUDIN	Audrey	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
POUPET	Cyril	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
PASQUALIN	Côme	PHARMACOLOGIE
PRIE	Gildas	CHIMIE ORGANIQUE
SAHLI	Ramla	PHARMACOGNOSIE
SIEROCKI	Pierre	CHIMIE ORGANIQUE
SOUCE	Martin	CHIMIE ANALYTIQUE
TAUBER	Clovis	BIOPHYSIQUE & BIOINFORMATIQUE
VELGE-ROUSSEL	Florence	IMMUNOLOGIE PARASITAIRE
VERCOILLIE	Johnny	BIOPHYSIQUE & BIOINFORMATIQUE
VERGER	Alexis	PHARMACIE GALENIQUE
VERGOTE	Jackie	AFFAIRE REGLEMENTAIRE ET MANAGEMENT DE LA QUALITE
VIERRON	Emilie	SANTÉ PUBLIQUE, BIOSTATISTIQUE & ÉPIDÉMIOLOGIE
ZHANG	Bei-Li	PHARMACOLOGIE

1 MAST

CAMUS GABRIEL

Mathilde

Filière Officine

4 MAITRES DE CONFÉRENCES ET PRATICIENS HOSPITALIERS

FOUCAULT-FRUCHARD	Laura	PHARMACIE CLINIQUE
FOUCAULT	Amélie	HEMATOLOGIE
MARLET	Julien	MICROBIOLOGIE
VEYRAT DUREBEX	Charlotte	BIOCHIMIE CLINIQUE

4 AHU (Assistant Hospitalier Universitaire)

BOULARD	Pierre	IMMUNOLOGIE
DOUEZ	Emmanuel	PHARMACIE GALENIQUE
POUPIN	Pierre	SANTÉ PUBLIQUE, BIOSTATISTIQUE & ÉPIDÉMIOLOGIE
TULOUP	Vianney	PHARMACIE CLINIQUE

1 ATER (Attaché Temporaire d'Enseignement et de Recherche)

KICHOU	Hichem	CHIMIE ANALYTIQUE
--------	--------	-------------------

1 PRAG

WALTERS-GALOPIN	Susan	ANGLAIS
-----------------	-------	---------

1 contrat d'enseignement

GERBIER (contrat)	Soledad	ANGLAIS
-------------------	---------	---------

3 CHARGÉS DE RECHERCHE

EPARDAUD	Mathieu	INRAE
MEVELEC	Marie-Noëlle	INRAE
MOIRE	Nathalie	INRAE



SERMENT DE GALIEN

En présence des Maitres de la Faculté, je fais le serment :

D'honorer ceux qui m'ont instruit(e) dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle aux principes qui m'ont été enseignés et d'actualiser mes connaissances ;

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de Déontologie, de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers la personne humaine et sa dignité ;

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels ;

De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession ;

De faire preuve de loyauté et de solidarité envers mes collègues pharmaciens ;

De coopérer avec les autres professionnels de santé ;

Que les Hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert(e) d'opprobre et méprisé(e) de mes confrères si j'y manque.

Date : 27 janvier 2024

L'étudiant

Le Doyen de la Faculté
Professeur Denys BRAND

Remerciements

A **Pierre Bredeloux**, professeur à la patience d'ange et aux conseils avisés, au regard critique et aiguisé et surtout, au doute raisonné. Un directeur comme on peut en rêver, qui a sacrifié de nombreuses soirées à travailler et à superviser ces travaux et relire de nombreuses fois ces pages...

A **Côme Pasqualin**, qui m'avait présenté ses travaux lors d'un cours d'UERB avec passion et a ainsi éveillé mon intérêt pour la recherche, qui a toujours été d'un soutien sans failles tout au long de ce travail et qui a pris sur son temps pour m'éclairer sur de nombreuses zones obscures ...

A **Jordan Challier**, un ami sincère qui m'a guidé depuis mes premiers pas dans le monde de la pharmacie, m'a transmis son savoir et ses compétences, appris à m'exprimer devant une foule et pour qui j'ai un profond respect tant son parcours est admirable...

A **Madeline Chenoffe** (et son équipe), ma première pharmacienne titulaire, qui m'a rapidement fait confiance, m'a façonné et guidé dans l'exercice de ma profession alors que je commençais tout juste à en apercevoir les possibilités...

A **l'Agnès Dillemann** et l'équipe de la pharmacie Saint-Eloi, qui ont pris le relai de ma formation, qui ont su parfaire mes compétences et avec qui j'ai plaisir à travailler ...

A **l'équipe du laboratoire de recherche**, qui m'ont accompagné, fait rire et progresser tout au long de cette année passée ...

A **Anissa Terbah**, un tandem avec laquelle j'ai passé de merveilleux moments qui resteront dans ma mémoire. Tu as toutes mes félicitations pour ta « nouvelle vie » et ton futur (très beau) métier...

A **mes parents**, et **ma sœur** qui sont un noyau et un cocon que je souhaite à tout le monde d'avoir la chance de posséder. Qui m'ont transmis des valeurs de respect, de travail, de sérieux et m'ont appris à aimer apprendre ...

A ma **belle-famille**, et plus particulièrement mes **beaux-parents**, **Béatrice** et **Stéphane** qui ont toujours été d'un soutien sans failles. Pour qui la confiance et la droiture sont des valeurs précieuses et qui le prouvent à chaque instant...

A **Camille**, pour tout, je remercie le ciel de nous avoir rassemblé ...

A toutes ces personnes, qui m'ont donné leur confiance, à chaque instant...

... merci du fond du cœur.

Table des matières

Remerciements.....	5
Liste des Abréviations.....	8
Index des figures & tableaux	9
Introduction.....	10
La Fibrillation Atriale.....	12
I. Rappels anatomiques et histologiques.....	13
Anatomie du système cardiovasculaire	13
Structure et histologie des entités vasculaires	14
II. Automaticité cardiaque et principaux mécanismes à l'origine des troubles du rythme.....	16
Génération du potentiel d'action	17
Potentiel d'action ventriculaire (20) (21).....	19
L'électrocardiogramme :.....	20
Régulation par le système nerveux autonome	21
Principaux mécanismes du développement de la FA	21
III. Epidémiologie	24
IV. Etiologie et Facteurs de risque	25
Les FA primitives	25
Les FA secondaires.....	25
Les FA idiopathiques.....	27
Classification des FA.....	27
Formes particulières	27
V. Complications	29
Les accidents thromboemboliques.....	29
Complications neurologiques	29
L'insuffisance cardiaque	29
Syncopes & Chutes	30
Morts subites.....	30
VI. Diagnostic	31
Parcours de soins en France	33
I. Stratégie de traitement	34
II. Anticoagulation :	35
Evaluation du risque Thromboembolique, selon CHADVASC :	35
Evaluation du risque hémorragique selon HAS-BLED :	37
Traitements disponibles	38
III. Stratégie de contrôle du rythme	41
Cardioversion pharmacologique (62)	41
Cardioversion électrique.....	43
Contrôle de la fréquence cardiaque	44
Ablation	44
IV. Nouveau traitement chirurgical	45
Fermeture de l'auricule gauche (76).....	45

V.	Conclusion sur les traitements actuellement disponibles en France	46
	Etat de la recherche	47
I.	Courants d'intérêt étudiés dans ce travail	51
	Courant I_{Kach} et Tertiapin Q	51
	Courant TREK	53
	Matériels et méthodes	55
I.	Animaux utilisés	55
II.	Isolement cellulaire	55
III.	Patch Clamp en voltage-clamp	56
	Description	56
	Conditions expérimentales	57
	Protocole de voltage clamp	59
IV.	Western Blot	59
	Extraction et dosage des protéines totales	59
	Conditions expérimentales	59
V.	Microélectrode Intracellulaire	61
	Conditions expérimentales	61
	Protocoles expérimentaux	62
VI.	Origine des substances & agents pharmacologiques	62
VII.	Analyses statistiques	62
	Résultats	63
	Effets de l'inhibition de I_{KACH} par la Tertiapin Q	64
I.	Etude du niveau d'expression du canal sous tendant le courant I_{Kach} par Western Blot	64
	Fonctionnalité des canaux GIRK dans les CM de VP.	65
	Effet propre de la Tertiapin Q dans les CM de VP	67
II.	Effet de la tertiapin Q sur le potentiel de membrane des CM de VP et d'OG	69
III.	Premières conclusions sur l'implication de I_{Kach} dans l'effet dépolarisant des CM de VP et OG	71
	Résultats de l'implication du courant TREK	73
I.	Etude du niveau d'expression de la protéine $K_{2P2.1}$ dans les CM de VP	73
II.	Etude de la fonctionnalité de la protéine $K_{2P2.1}$ dans les CM de VP et d'OG.	74
	Effet du ML 335 20 μ M sur les courants de fond des CM de VP et d'OG	74
	Effet du ML 335 sur le potentiel de membrane des CM de VP et OG	77
	Effet de la cirazoline 1 μ M en présence de ML 335 sur le courant à 25°C en protocole de Voltage clamp	78
III.	Conclusion partie ML 335	80
	Discussion générale et perspectives	81
	Bibliographie	83
	Annexes	90

Liste des Abréviations

ACH : Acétylcholine	IC : Insuffisance Cardiaque
AOD : Anticoagulant Oraux Directs	KRB : Solution de Krebs-Ringer-Bicarbonate
AVC : Accident Vasculaire Cérébral	KREBS : Solution de Krebs-Henseleit
AVK : Antivitamine K	MIP : Milieu Intra Pipette
BSA : Bovine Serum Albumin	NA : Noradrénaline
CAPA : Capacité membranaire	NAV : Noeur Atrio-Ventriculaire
CCH : Carbachol	OG : Oreillette Gauche
CM : Cardiomyocytes	PA : Potentiel d'action
CRZ : Cirazoline	PIC : Protease Inhibition Cocktail
EGTA : Ethylene glycol-bis(β -aminoethyl ether)-N,N,N',N'-tetraacetic acid	PMR : Potentiel de Membrane de Repos
E_K : Potentiel d'équilibre de l'ion potassium	P_o : Probabilité d'ouverture
EP : Embolie Pulmonaire	PVDF : Polyvinylidene Fluoride
FA : Fibrillation Atriale	SEM : Erreur standard de la moyenne
FAP : Fibrillation Atriale Paroxystique	SVF : Sérum de Veau Foetal
HBPM : Héparine de Bas Poids Moléculaire	TAC : Traitement anticoagulant
HEPES : Acide 4-(2-Hydroxyléthyl)-1-Piperazine Ethan Sulfonique	TBST : Tris Buffered Saline Tween
HNF : Héparine Non Fractionnée	TQ : Tertiapin Q
HRP : Peroxydase de Raifort	TREK : Twik Related K^+ Current
	VP : Veines pulmonaires
	WB : Western Blot

Index des figures & tableaux

Figures :

Figure 1 : Représentation schématique d'un cœur humain
Figure 2 : Schéma précisant les zones d'embouchure des VP à l'OG
Figure 3 : Coupe histologique d'une veine pulmonaire
Figure 4 : Représentation schématique des étapes de transmission du potentiel d'action nodal au sein du muscle cardiaque.
Figure 5 : Représentation schématique de canaux ioniques enchâssés dans la membrane d'un cardiomyocyte
Figure 6 : représentation d'un potentiel d'action ventriculaire
Figure 7 : Représentation des potentiels d'action enregistrables dans les cellules des différents tissus cardiaques, superposés à l'électrocardiogramme de surface
Figure 8 : Représentation schématique d'un mécanisme de réentrée
Figure 9 : Représentation schématique des étapes conduisant à l'apparition (et à la persistance) de la FA
Figure 10 : ECG caractéristique d'une fibrillation atriale- Dérivation V3
Figure 11 : Disposition des électrodes nécessaires à la réalisation de la cardioversion électrique
Figure 12 : Représentation schématique d'une fermeture de l'auricule gauche
Figure 13 : Salves d'activités électriques automatiques déclenchées par la noradrénaline
Figure 14 : Représentation de l'effet de la superfusion de noradrénaline $10^{-5}M$ sur le potentiel de membrane de repos
Figure 15 : Structure tétramérique de Girk1/4
Figure 16 : Structure Secondaire de la Tertiapine
Figure 17 : Arbre phylogénétique des différentes sous-unités potassiques K-2P
Figure 18 : Structure des canaux K-2P
Figure 19 : Bloc Cœur-Poumon et sites de prélèvement
Figure 20 : Présentation du poste de patch clamp
Figure 21 : Protocole de Rampe

Figure 22 : Présentation du montage expérimental de microélectrode intracellulaire
Figure 23A : Expression relative de GIRK1 et GIRK4 dans les CM de VP et d'OG (pris en référence)
Figure 23B : Ratio d'expression du complexe GIRK 4/GIRK 1 dans les CM de VP et d'OG
Figure 24A & B : Courbes courant/voltage moyennes des cardiomyocytes d'OG et de VP
Figure 25 : Représentation du courant I_{Kach} par technique de patch clamp
Figure 26A & B : Effet de la tertiapin Q sur les cardiomyocytes d'oreillettes gauches (A) et les veines pulmonaires (B)
Figure 27 : Effet de la Tertiapin Q à 300 nM sur les cardiomyocytes de Veines Pulmonaires
Figure 28 : Potentiel de membrane à l'équilibre des VP et des OG en conditions contrôle puis lors d'une superfusion par 150nM de TQ
Figure 29A : Représentation de l'expression relative de la protéine K2P2.1
Figure 29B : Illustration du Western Blot pour la protéine K2p2.1
Figure 30A & B : Courbe IV moyenne en conditions contrôle et en présence de ML335 dans les CM de VP et d'OG
Figure 31 : Courant de différence dans les CM d'OG et de VP activé par le ML 335 à 20 μM
Figure 32 : Courbe concentration effet du ML 335
Figure 33A : Tracé de current-clamp représentatif de n=8 CM de VP
Figure 33B : Potentiel de membrane avant et après le passage du ML 335
Figure 34A : Courant bloqué par la cirazoline 1 μM en absence de ML 335
Figure 34B : Courant bloqué par la cirazoline 1 μM en présence de ML 335 20 μM

Tableaux :

Tableau 1 : Tableau du score de CHA₂DS₂-VASc
Tableau 2 : Interprétation du score CHA₂DS₂-VASc
Tableau 3 : Score de HAS-BLED
Tableau 4 : Interprétation du score de HAS-BLED
Tableau 5 : Potentiel de membrane à l'équilibre des VP après superfusion de 150nM de TQ (N = 13) et de 1 μM de cirazoline

Introduction

Les veines pulmonaires (VP), qui ramènent le sang oxygéné des poumons dans l'oreillette gauche, possèdent un manchon de cardiomyocytes (CM), qui est capable de générer des activités électriques anormales, appelées foyers ectopiques, responsables du déclenchement de 94% des fibrillations atriales (FA) paroxystiques (1).

La FA est le trouble du rythme le plus fréquent, avec une prévalence de six cents mille à un million de personnes ainsi qu'une incidence de 110 à 230 000 nouveaux cas par an, en France (2). Il n'existe aucun traitement efficace au long cours pour cette pathologie, qui multiplie le risque d'accident vasculaire cérébral (AVC) ischémique par 3 à 5 et conduit à l'insuffisance cardiaque. Il s'agit d'un problème majeur de santé publique (3). Le développement de nouveaux outils thérapeutiques est donc nécessaire.

Le laboratoire PCCV (Physiologie des Cellules Cardiaques et Vasculaires), appartenant au groupe de recherche STIM (Signalisation et Transports Ioniques Membranaires, est un laboratoire ERL 7368 de l'université de Tours situé à la faculté de pharmacie. Le groupe est dirigé par le professeur Véronique Maupoil. Son domaine d'étude s'inscrit dans la recherche et le développement des connaissances autour de l'étude des transporteurs ioniques membranaires, impliqués dans de nombreuses pathologies cardiovasculaires, comme la FA.

Au sein du laboratoire de pharmacologie de la faculté de pharmacie de Tours, il a été montré sur des lambeaux isolés de veines pulmonaires (VP) de rats que la superfusion de noradrénaline (NA), un agoniste non sélectif des récepteurs α_1 et β_1 adrénergiques) était responsable d'une activité automatique se présentant sous la forme de salves de contractions (4). De plus, il a été démontré sur une préparation tissulaire constituée des VP et de l'OG de rat, que l'activation des récepteurs α_1 adrénergiques par la cirazoline (CRZ) un agoniste sélectif de ces récepteurs, entraîne une déconnexion électrique les VP des OG (5). En effet, l'activation des récepteurs α_1 -adrénergiques provoque une dépolarisation spécifique de la membrane des CM de VP, sans incidence sur les CM d'OG, permettant une perte d'excitabilité des CM de VP, responsables de la génération des potentiels d'action ectopiques dans la à l'origine de la FA. Cette caractéristique pourrait permettre l'apparition d'une nouvelle méthode de traitement de la FA.

Cependant, l'utilisation thérapeutique d'un agoniste des récepteurs α_1 -adrénergiques n'est pas envisageable à cause des effets indésirables qu'il engendrerait. Il est donc nécessaire de comprendre les mécanismes physiologiques liés à l'activation des récepteurs α_1 -adrénergiques dans les CM de VP, afin d'identifier une cible exploitable en thérapeutique.

Au sein du laboratoire, des études de patch clamp ont montré que l'activation des récepteurs α_1 -adrénergiques par la CRZ bloquait des courants de fond potassiques. Parmi les courants potassiques de fond présents dans les CM, on retrouve les courants *TREK*, ainsi que le courant rectifiant entrant *IK_{ach}*. Ces courants présentent un rôle important dans le maintien du potentiel de repos des CM aux alentours de -80mV (*Potentiel d'équilibre du potassium*), en s'opposant aux effets de conductances dépolarisantes. Le blocage de *TREK* d'une part et d'*IK_{ach}* d'autre part, permettraient donc d'expliquer la dépolarisation observée dans les CM de VP, suite à la superfusion de CRZ.

L'objectif de ce travail est donc de caractériser les courants potassiques de fond qui pourraient être impliqués dans les effets résultant d'une activation des récepteurs α_1 adrénergique. Ceci pourrait permettre d'identifier des cibles pharmacologiques plus pertinentes dans l'optique du développement d'une stratégie thérapeutique de la FA paroxystique.

La Fibrillation Atriale

La Fibrillation auriculaire, ou fibrillation atriale (FA) est une arythmie supraventriculaire caractérisée par une activité atriale non coordonnée et très rapide, avec comme conséquence une détérioration de la fonction mécanique de l'oreillette, responsable d'une incompetence hémodynamique et d'une tachycardie (6). L'arythmie est généralement secondaire à la présence de foyers ectopiques au niveau des veines pulmonaires générant une activité électrique qui se propage à l'oreillette gauche (7). Ceci entraîne un remodelage atrial, qui se caractérise par une dilatation et une fibrose atriale pouvant faciliter des arythmies par des mécanismes de ré-entrée(8).

Elle s'exprime dans un premier temps par des épisodes de fibrillation spontanément résolutifs, puis évolue progressivement, en l'absence de traitement, vers une pérennisation de l'état de fibrillation. Il découle de cette évolution, une classification des stades de développement de la FA en fonction de la durée des épisodes et de leur récurrence (9).

La FA paroxystique représente le premier stade de la maladie, dans lequel les épisodes récurrents de fibrillation cèdent spontanément en moins de 7 jours, généralement en moins de 24 heures. Le second stade est défini par une durée d'épisodes de FA supérieurs à 7 jours ; la FA est alors classée comme persistante. Elle nécessite alors une cardioversion pharmacologique ou électrique. Enfin, le dernier stade est défini par une FA dite permanente, c'est-à-dire d'une durée supérieure à un an. Cet ultime stade fait généralement suite à d'une abstention thérapeutique (*chirurgicale ou pharmacologique*) ou lié à une absence de réponse thérapeutique.

I. Rappels anatomiques et histologiques

Anatomie du système cardiovasculaire

Le cœur est une structure musculaire reposant sur le diaphragme, de la taille d'un poing fermé, située dans la cage thoracique, légèrement décalé sur la gauche. Une paroi centrale épaisse divise cet organe en deux parties, elles-mêmes divisées en deux cavités : une oreillette et un ventricule, reliées par une valve, empêchant un reflux sanguin vers les structures précédentes. On définit ainsi les oreillettes gauches et droites et les oreillettes (ou atriums) gauches et droites. Le rôle du cœur est de faire circuler le sang dans l'organisme, par l'intermédiaire de vaisseaux : les veines et les artères (10).

L'appellation du vaisseau dépend du sens de distribution du sang : les artères transportent le sang du cœur vers les organes. A l'inverse, les veines sont impliquées dans le transfert du sang des organes vers le cœur.

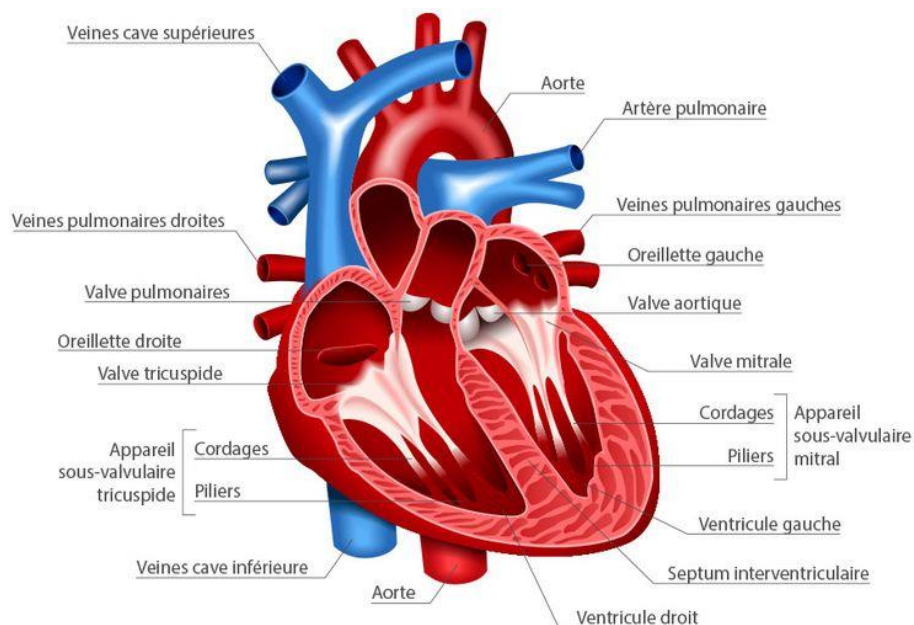


Figure 1 : Représentation schématique d'un cœur humain. Selon L. Arweiler sur sante-sur-le-net.com

Dans la circulation pulmonaire, les artères font circuler un sang désoxygéné du cœur vers les poumons. Les veines, à l'inverse, transportent un sang riche en oxygène vers le muscle cardiaque, qui le transmettra à son tour au reste de l'organisme. Il existe quatre veines pulmonaires, deux connectées à chaque poumon. Elles prennent naissance au niveau du hile de chaque poumon, et s'abouchent à l'oreillette gauche, après un trajet d'environ 15 centimètres (11).

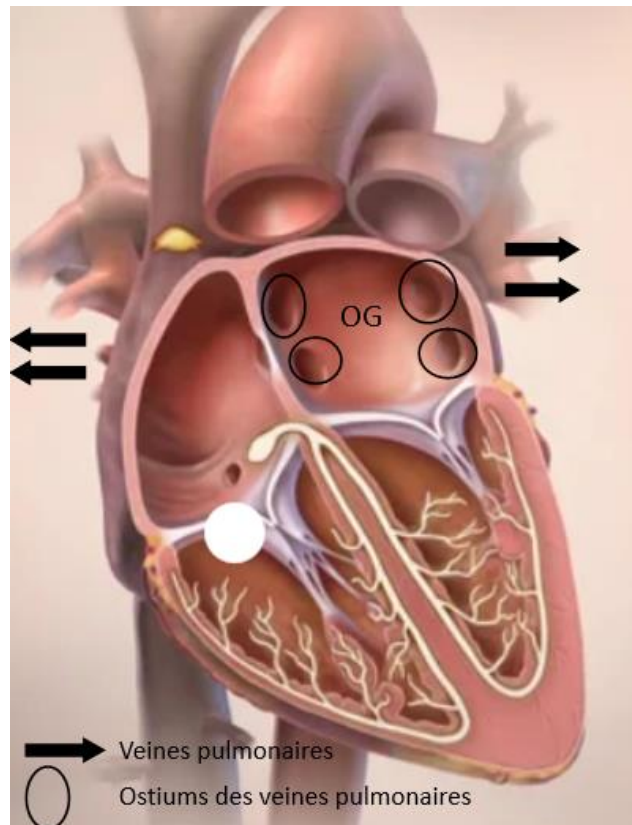


Figure 2 : Schéma précisant les zones d'embouchure des VP à l'OG d'après rythmopole-paris

Structure et histologie des entités vasculaires

Les vaisseaux sont composés de trois couches :

- L'intima est la partie la plus proche de la lumière. Elle est composée d'endothélium et de sous-endothélium, c'est-à-dire d'une lame basale et de fibres élastiques
- La média est la tunique intermédiaire. Elle est composée de cellules musculaires lisses, de fibres de collagène et de fibres élastiques
- L'adventice est la tunique externe du vaisseau, elle est majoritairement composée de collagène.

Dans le cas particulier des veines pulmonaires, il a été découvert un manchon de cardiomyocytes localisé entre la média et l'adventice (12). Le diamètre de ce manchon est variable et grossit à mesure que l'on se déplace vers l'ostium atrial.

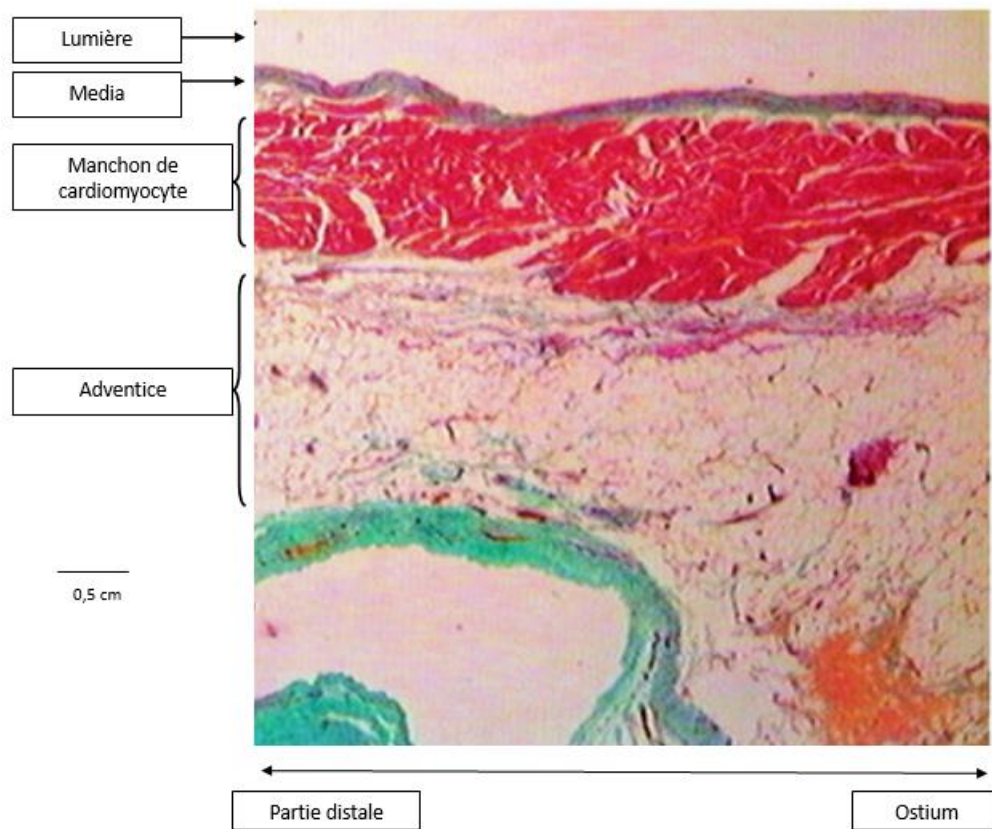


Figure 3 : Coupe histologique d'une veine pulmonaire de chien. Adapté de Hocini et al. 2002

II. Automaticité cardiaque et principaux mécanismes à l'origine des troubles du rythme

L'automatisme cardiaque est la propriété du cœur à se contracter rythmiquement en l'absence de toute stimulation nerveuse. Cette capacité est liée à des myocytes spécialisés, appelés des cellules nodales (13). Ces cellules présentent la capacité de générer un potentiel d'action (PA) par elles-mêmes, grâce à une instabilité de leur potentiel de membrane. Ce PA est ensuite transmis très rapidement à l'ensemble du muscle cardiaque grâce au tissu de conduction, permettant une contraction synchrone des cardiomyocytes.

Les cellules nodales sont spécialisées dans l'initiation et la conduction du PA. Ce sont des cellules non contractiles permettant la propagation de PA de proche en proche. Elles sont concentrées au niveau du nœud sinusal, dans la partie haute de l'auricule droit, sous la veine cave supérieure. C'est le nœud sinusal qui est déterminant dans la fréquence cardiaque. Une fois initié, le PA est transmis au reste du cœur par les fibres internodales, puis par le nœud auriculo-ventriculaire, pour rejoindre le faisceau de His (= faisceau auriculo-ventriculaire) au niveau du septum interventriculaire jusqu'à l'apex du cœur. Il finit enfin sa course dans les fibres de Purkinje, insérées dans la paroi des ventricules. Ainsi, le nœud sinusal impose le rythme à toutes les cellules contractiles cardiaques.

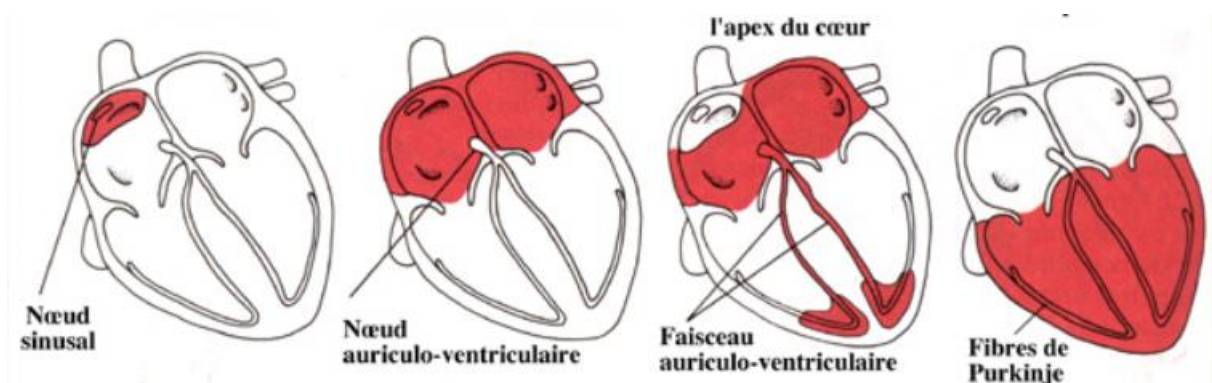


Figure 4 : Représentation schématique des étapes de transmission du potentiel d'action nodal au sein du muscle cardiaque. (<http://www.afblum.be/bioafb/coeur/coeur.htm>)

Génération du potentiel d'action

Le potentiel de membrane représente la différence de potentiel électrique de part et d'autre de la membrane plasmique d'une cellule, c'est-à-dire entre le secteur intracellulaire et le secteur extracellulaire. Une cellule « au repos » possède un potentiel membranaire négatif d'environ -90 mV, ce qui signifie que la charge en ions est plus négative à l'intérieur qu'à l'extérieur de la cellule.

A chaque moment, le potentiel de membrane est déterminé par la somme des courants entrants et sortants de la cellule, c'est-à-dire les flux transmembranaires d'espèces ioniques chargées telles que le sodium (Na^+), le calcium (Ca^{2+}) ou encore le potassium (K^+) (15). Ces flux sont permis par l'activité des protéines transmembranaires permettant un passage plus ou moins sélectif d'ions : les canaux ioniques.

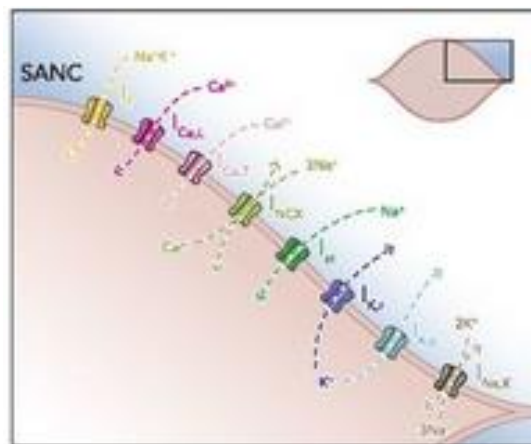


Figure 5 : Représentation schématique de canaux ioniques de la membrane d'un cardiomyocyte.

(16)

L'ouverture et la fermeture des canaux ioniques permet la diffusion des ions selon leur gradient électrochimique. Ce passage d'ions au travers de la membrane génère des courants électriques responsables des phénomènes de dépolarisation et de repolarisation. Ces variations du potentiel de membrane constituent le potentiel d'action.

Le potentiel de membrane des cellules nodales est instable et passe de -90 mV à -40 mV. L'atteinte de cette valeur, ou de seuil de dépolarisation, permet la naissance d'un potentiel d'action. Ce sont les canaux I_f , responsables d'une entrée lente de sodium, de calcium et d'une faible sortie de potassium, qui sont la cause principale de la dépolarisation lente de la membrane, ce qui conduit au seuil d'excitabilité des cellules nodales. (17)

Ce potentiel d'action se transmet d'une cellule à l'autre de proche en proche de manière anisotrope (18), c'est-à-dire dans un sens préférentiel (à savoir le sens nodal), grâce aux GAP jonctions (19), et permet sa conduction à l'intégralité du muscle cardiaque, notamment aux cellules contractiles cardiaques : les cardiomyocytes, dont la contraction ne se fait qu'après leur dépolarisation. Ces caractéristiques assurent une contraction synchronisée et homogène des cellules cardiaques.

Potentiel d'action ventriculaire (20) (21)

Le potentiel d'action des cardiomyocytes ventriculaires fait suite à la réception d'un potentiel d'action nodal, responsable d'une ouverture des canaux sodiques, entraînant une entrée massive et rapide d'ions Na^+ (phase 0). Le courant sodique (I_{Na}) qui en découle provoque une modification brutale du potentiel de membrane, passant d'un potentiel de repos (environ -90mV) à une valeur maximale (environ +20mV). Le courant sodique s'inactive alors et le courant potassique sortant transitoire (I_{to}) s'active, entraînant la repolarisation initiale de la cellule (phase 1) (22). Cette repolarisation est cependant ralentie par la composante lente du courant calcique (I_{CaL}) entrante, induite par l'activité des canaux calciques de type L, ouverts pendant la phase 0 (lorsque le potentiel dépasse les -40mV) (23). Ce phénomène est responsable de la phase plateau du potentiel d'action (phase 2). Les canaux calciques se ferment, permettant une reprise plus rapide de la repolarisation de la membrane par les courants potassiques, principalement I_{kur} , I_{Kr} , et I_{Ks} jusqu'à son potentiel de repos (phase 3).

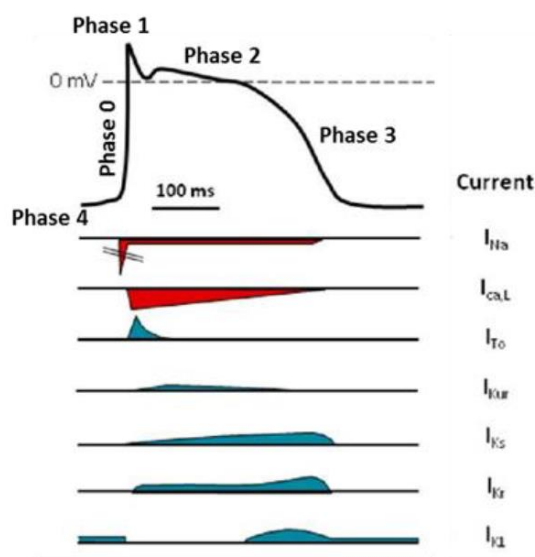


Figure 6 : représentation d'un potentiel d'action ventriculaire. Les courants dépolarisants et repolarisants responsables du potentiel d'action sont respectivement représentés en rouge et en bleu. (24) (25)

Le potentiel d'action se caractérise ainsi par plusieurs phases successives correspondant à l'activité de différents canaux ioniques dépendants du potentiel de membrane.

L'électrocardiogramme :

La forme et la durée du potentiel d'action varient selon les tissus (oreillettes, ventricules, nœud sinusal, faisceau de His etc.) et en fonction du niveau d'expression des différents canaux ioniques.

La propagation du PA dans le cœur permet l'observation d'ondes spécifiques par la technique de l'électrocardiogramme (ECG), qui permet la mesure de la propagation de l'activité électrique cardiaque par le biais d'électrodes posées à la surface du corps du patient. (26) On identifie ainsi :

- L'onde P qui correspond à la dépolarisation
- Le complexe QRS qui correspond à la dépolarisation
- L'onde T qui correspond à la repolarisation

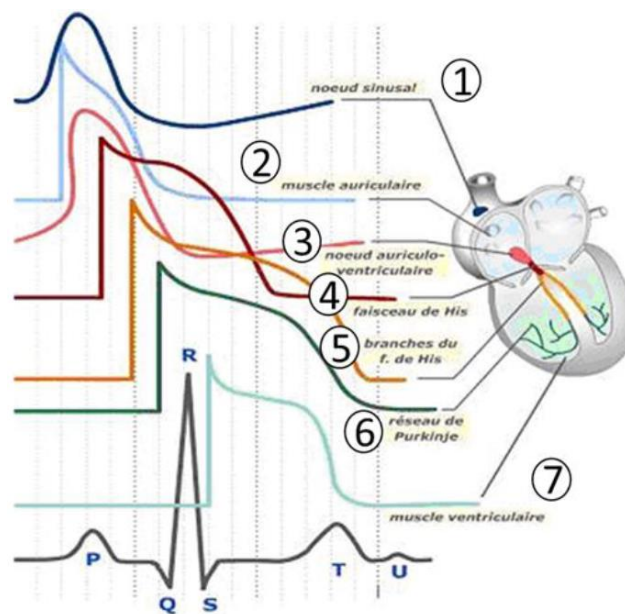


Figure 7 : Représentation des potentiels d'action enregistrables dans les cellules des différents tissus cardiaques, superposés à l'électrocardiogramme de surface. 1 = nœud sinusal, 2 = muscle auriculaire, 3 = nœud auriculo-ventriculaire, 4 = faisceau de His, 5 = branches du faisceau de His, 6 = réseau de Purkinje, 7 = muscle ventriculaire (extrait de :

http://www.dematice.org/ressources/DCEM1/pharmacologie/D1_phar_02.html)

Régulation par le système nerveux autonome

Le cœur à une innervation autonome au niveau du bulbe rachidien. On y retrouve le centre cardio-inhibiteur, le centre cardio-accélérateur et le centre vasomoteur. Ces trois centres appartiennent au système nerveux autonome (SNA), qui est considéré comme le régulateur principal de l'automatisme cardiaque.

Dans le cœur adulte, la branche sympathique, dont les neuromédiateurs sont l'adrénaline et la noradrénaline, est chronotrope, dromotrope, inotrope et bathmotrope positive. La fixation de l'adrénaline et de la noradrénaline sur les récepteurs β_1 adrénergiques conduit à une augmentation de la conductance sodique et calcique, permettant une dépolarisation plus rapide et une augmentation de la force de contraction. (27)

A l'inverse, la branche parasympathique, dont le neuromédiateur est l'acétylcholine est chronotrope, dromotrope, inotrope et bathmotrope négative. L'activation des récepteurs muscariniques par l'acétylcholine provoque une augmentation de la conductance potassique, provoquant l'hyperpolarisation des cellules nodales et donc un éloignement de leur potentiel de membrane du seuil d'excitabilité.

C'est l'équilibre entre les deux branches du système nerveux autonome qui permet le contrôle de l'activité pacemaker des cellules nodales. (28)

Principaux mécanismes du développement de la FA

La physiopathologie de la FA est complexe et dépend du stade de la maladie. Une des descriptions les plus précises des mécanismes sous tendant cette pathologie est proposée la revue de Schotten et al (29)

La FA est la conséquence de l'activité d'une zone génératrice de potentiels d'actions située en dehors du nœud sinusal est qualifiée de foyer électrique ectopique. La FA est généralement due, dans un premier temps, à l'existence de foyers ectopiques présents au niveau des veines pulmonaire. Ainsi, 94% des foyers sont retrouvés dans le manchon de cardiomyocytes des veines pulmonaires, mais d'autres foyers peuvent être retrouvés dans le muscle cardiaque de la veine cave et dans l'oreillette droite (1).

Ces foyers sont responsables d'une activité électrique qui se propage à l'oreillette gauche, dont la fréquence atteint des valeurs très élevées (équivalente à 400 – 600 bpm). A son arrivée au niveau du nœud atrio-ventriculaire, ce dernier exerce son rôle de « frein » dans la fréquence des PA qui lui sont adressés. Ainsi, il existe un phénomène de « filtration » de l'activité atriale tachycarde anarchique, conduisant à une réponse ventriculaire irrégulière et de fréquence variable selon les patients, mais toujours moins rapide que celle retrouvée au niveau du foyer ectopique.

Le tissu atrial est toutefois modifié par ces phénomènes et devient capable de maintenir l'arythmie. Un modèle, nommé « multiple wavelet » (30) suggère que les anomalies électrophysiologiques médiées par les foyers ectopiques peuvent créer de multiples sources de signaux électriques (multipliés par 3 à 6) chaotiques dans l'oreillette. Ces sources de signaux peuvent se combiner et interférer les uns avec les autres pour produire une activité électrique chaotique dans l'oreillette, ce qui renforce les troubles électriques de la FA.

Le phénomène à la base de ces mécanismes de réplication repose sur des mécanismes de ré-entrée. Il s'agit d'une ré-excitation d'une région du tissu cardiaque par un influx électrique qui revient à son point d'origine après avoir parcouru une boucle plus ou moins grande dans le tissu.

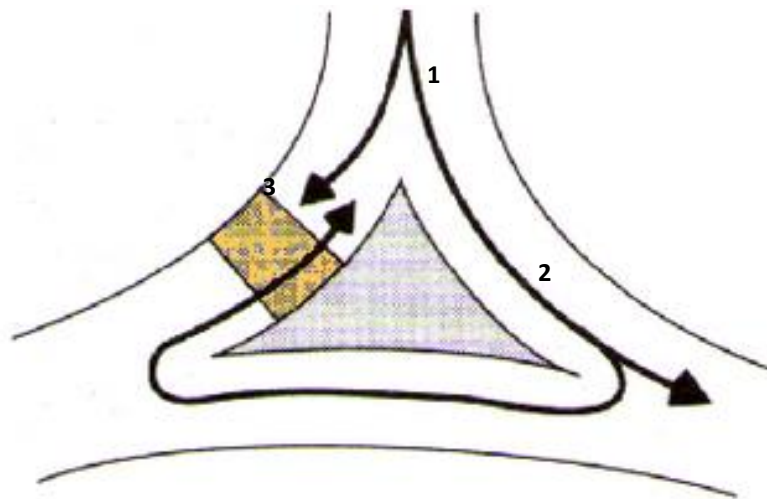


Figure 8 : Représentation schématique d'un mécanisme de réentrée : un influx électrique initial rencontre une zone non conductrice sur une structure (1), cet influx suit une nouvelle boucle (2) et revient à son point d'origine (3), permettant de stimuler de nouveau la zone.

Adapté d'une figure de Stéphane FOULON sur aide-a-la-lecture-d-ECG.com

Ces phénomènes sont favorisés par des altérations qui témoignent d'une souffrance cardiaque : fibrose, remodelage électrique touchant les courants calciques (31) ou potassiques (32), et remodelage structural du muscle cardiaque, notamment une dilatation de l'oreillette gauche (33).

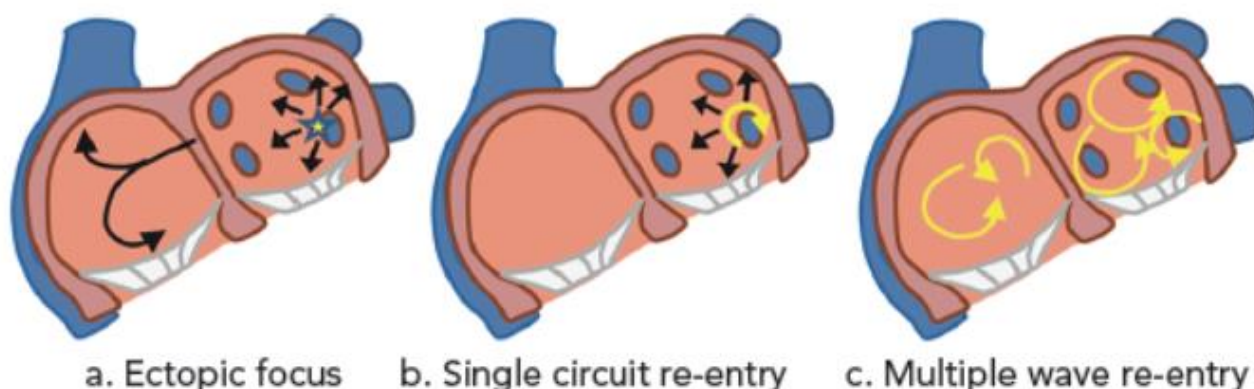


Figure 9 : Représentation schématique des étapes conduisant à l'apparition (et à la persistance) de la FA, d'après Caroline H. Roney (34)

Dans le stade ultime de la maladie, la FA persistante, on retrouve systématiquement de profondes altérations de l'électrophysiologie cellulaire, des modifications du métabolisme calcique et de la matrice extracellulaire. Ces mécanismes, qui touchent plutôt l'atrium, conduisent à l'apparition de foyers pro-fibrillaires secondaires, qui ont tendance à perpétuer voire à aggraver l'arythmie. Ainsi, on passe d'une pathologie qui a pour origine les veines pulmonaires, à une pathologie d'origine atriale.

Ces phénomènes permettent de comprendre l'activité électrique désorganisée retrouvée dans la fibrillation auriculaire et expliquent pour quelles raisons la FA reste une pathologie d'autant plus difficile à traiter que le stade de développement est avancé.

III. Epidémiologie

La FA est le trouble du rythme le plus répandu dans les pays développés. Sa prévalence augmente de manière régulière, en raison de l'augmentation de l'espérance de vie liée à une meilleure prise en charge des maladies chroniques, de l'amélioration de son diagnostic et d'une meilleure prise en charge des complications.

En 2014, la proportion de sujets atteints de FA était estimée entre 2 et 4% dans les pays occidentaux. La prévalence de cette pathologie augmente avec l'âge, passant de 0,14 ($\pm 0,2$) % pour la tranche d'âge de 49 ans ou moins, à 15,5 ($\pm 3\%$) pour la tranche d'âge des plus de 80 ans. Cette prévalence est variable selon les pays et en lien avec une implication de facteurs génétiques et ethniques. Malgré un ratio homme/femme proche de l'équité (Ratio Homme - Femme = 1,2), les femmes restent les plus touchées, en raison de leur plus grande espérance de vie (35).

L'incidence de la FA est estimée à 0,3 pour 1000 personnes par an. Les projections prédisent que l'incidence de la FA va doubler dans les 20 prochaines années (36), en raison, d'une part, de l'augmentation de l'espérance de vie, et d'autre part, de la réduction de la mortalité cardiovasculaire. La FA représente ainsi un problème majeur de santé publique, qui ne va faire que s'aggraver dans les prochaines années, et par conséquent, qui va représenter une source majeure d'augmentation des coûts de la santé.

IV. Etiologie et Facteurs de risque

La fibrillation auriculaire peut être provoquée par de nombreux éléments se révélant ainsi, souvent, multifactoriels. Dans un souci de classification, on décrit 3 grands types d'origines et sont classées de la manière suivante :

- Les FA primitives lorsqu'on peut expliquer leur apparition par une cause génétique
- Les FA secondaires lorsqu'elles surviennent à la suite d'une pathologie sous-jacente
- Les FA idiopathiques

Les FA primitives

On estime que les FA primitives représentent environ 30% des cas diagnostiqués. Ce type de FA est lié à l'existence de mutations génétiques expliquant l'apparition de la pathologie. Il existe plusieurs facteurs génétiques prédisposant à la FA, conduisant à un risque relatif de 1,85 de développer une FA chez les patients avec un parent du premier degré (frère, sœur, père et mère) atteint de FA (37). Certains gènes sont identifiés comme étant des facteurs de risque de développement de FA, par exemple une mutation du gène du peptide natriurétique auriculaire, rendant sa protéolyse moins efficace (38), ou encore une mutation sur le locus du chromosome 4q25 (39)

Les FA secondaires

Dans la plupart des cas, la fibrillation n'est pas d'origine génétique. De nombreux facteurs prédisposent au développement de la fibrillation, qui est alors qualifiée de secondaire. En premier lieu, on retrouve l'hypertension artérielle, qui est concomitante à une FA dans 54% des cas. Ensuite, le diabète représente 39% des associations (40). Il existe une liste conséquente de causes pouvant être à l'origine du développement de la FA. (41)

Liste non exhaustive de causes cardiaques de FA :

- Valvulopathies (surtout mitrales) (RR 2.42 - IC_{95%} 1.62 – 3.6) ;
- Hypertension Artérielle (OR 1.32 – IC_{95%} 1.08 – 1,6) ;
- Insuffisance cardiaque (OR 1.43 - IC_{95%} 0.85 – 2.4) ;
- Infarctus du myocarde (OR 1.46 - IC_{95%} 1.07 – 1.98) ;

- Artériopathie périphérique (Artérite oblitérante des membres inférieurs (AOMI) et du tronc supra aortique) ;
- Takotsubo ;
- Cardiomyopathie hypertrophique ;
- Péricardite ;
- Syndrome de Wolff-Parkinson-White ;
- Cardiopathie congénitale (communication inter-atriale) ;
- Maladie du sinus ;
- Chirurgie cardiaque récente ;

Liste non exhaustive de causes de FA d'origine non cardiaque :

- Diabète (OR 1.25 - IC_{95%} 0.98 – 1.6) ;
- Dysthyroïdie
 - Hypothyroïdie (OR 1.23 - IC_{95%} 0.77 – 1.97) ;
 - Hyperthyroïdie subclinique (RR 1.31 - IC_{95%} 1.19 – 1.44) ;
 - Hyperthyroïdie (RR 1.42 - IC_{95%} 1.22 – 1.63) ;
- Désordre & Syndrome métabolique
 - Surpoids – IMC 25-30 kg/m² (HR 1.13 IC_{95%} 0.87 – 1.46 comparé à un IMC < 25 kg/m²) ;
 - Obésité – IMC > 30 kg/m² (HR 1.37 - IC_{95%} 1.05 – 1.78 comparé à un IMC < 25 kg/m²) ;
- Maladies respiratoires : Apnée du sommeil, pneumopathies, embolies pulmonaires etc. ;
- Insuffisance rénale chronique ;
- Phéochromocytome/Augmentation du tonus sympathique ;

Certaines FA peuvent également être déclenchées par différents facteurs :

- Des troubles hydroélectrolytiques, en premier lieu l'hypokaliémie ;
- La consommation d'excitants, d'alcool ou de toxiques (notamment les sympathomimétiques, comme la cocaïne et ses dérivés) ;
- Une cause iatrogène : catécholamines, corticoïdes, médicaments antirejet (tacrolimus, ciclosporine), et vecteurs de modification de la kaliémie (diurétiques, IEC, ARA II, sels de

potassium, triméthoprim, pentamidine, et héparines non fractionnées ou de bas poids moléculaires) (42) ;

- Un état inflammatoire général, dans un contexte septicémique ou loco-régional : contexte post-opératoire de chirurgie thoracique et cardiaque ou péricardite par exemple.

Les FA idiopathiques

Il existe encore aujourd'hui des cas de FA qui ne sont causées par aucune pathologie sous-jacente et qui ne peuvent pas être expliquées génétiquement. Ces FA, dont la cause ne peut aujourd'hui pas être identifiée, sont appelées des FA idiopathiques.

Classification des FA

Le premier épisode de FA est non classable. Au-delà, on parle de Fibrillation atriale : (41)

- Paroxystique : Durée inférieure à sept jours (*généralement 48h*), avec un retour en rythme sinusal spontané, ou à l'aide d'une cardioversion électrique ou pharmacologique.
- Persistante : Durée supérieure à sept jours, avec un retour en rythme sinusal avec ou sans action thérapeutique.
- Persistante prolongée : durée supérieure à un an et pour laquelle une stratégie de contrôle du rythme est envisagée
- Permanente : FA résistante à tout traitement disponible, responsable d'une abstention thérapeutique pour les patients. Parfois, certains traitements sont conservés devant leur capacité d'amélioration symptomatique.

Il est à noter que les formes paroxystiques ou persistantes peuvent être récurrentes.

Formes particulières

Comme de nombreuses pathologies cardiovasculaires, l'association de plusieurs atteintes cardiaques n'est pas une chose rare. Dans le cadre de la FA, les formes cliniques les plus courantes sont :

- La FA isolée qui est une FA sans cardiopathie associée ni comorbidité

- FA associée à une insuffisance cardiaque (IC) : la relation entre FA et IC est à double sens. La FA peut être à l'origine d'une IC, responsable d'une cardiopathie rythmique. Inversement, l'IC est un facteur de risque de FA
- FA valvulaire : FA associée à un rétrécissement mitral modéré à sévère rhumatismal ou FA apparaissant chez un patient porteur d'une prothèse valvulaire mécanique. Il s'agit actuellement d'une forme avec le pronostic le plus sombre. En effet, il s'agit de la forme de FA présentant le risque de complications ischémiques le plus important.
- Maladie de l'oreillette : association successive d'épisodes de FA paroxystique et de bradycardie sinusale.

Il existe aussi la FA silencieuse, dont la découverte se révèle fortuite, chez un patient asymptomatique.

V. Complications

La plupart des facteurs de risques cardiovasculaires augmentent le risque de développement de FA, cependant la FA est également associée à des complications, et à un doublement de la mortalité.

Les accidents thromboemboliques

Dans le cadre de la FA, la complication la plus courante et la plus dévastatrice est l'accident vasculaire cérébral (AVC) ischémique (43). Il peut être la conséquence d'une stagnation de sang dans l'oreillette gauche liée à son dysfonctionnement contractile, à l'origine d'un thrombus. Lors d'une contraction de l'auricule gauche, ce thrombus peut être fragmenté et les embolies formées sont propulsées dans la circulation sanguine. La circulation cérébrale assurée par les artères carotides et le flux sanguin cérébral peut alors être stoppée par ces embolies et conduire à l'AVC ischémique.

La FA est ainsi associée à un risque relatif d'AVC multiplié par 3 comparé à la population générale. (44)

Complications neurologiques

Même en l'absence d'AVC, la FA est associée à une augmentation du risque de développement des démences ainsi qu'à un déclin cognitif plus rapide. (45)

L'insuffisance cardiaque

Dans le cadre de la FA, on retrouve deux mécanismes responsables d'une incapacité du cœur à assurer sa fonction de pompe et les besoins hémodynamiques du corps :

- La tachycardie chronique provoquée par la FA entraîne un dysfonctionnement systolique du ventricule gauche.
- L'incompétence hémodynamique de l'oreillette gauche entraîne un défaut de remplissage actif du ventricule gauche.

Ces dysfonctionnements sont responsables d'une diminution de la fraction d'éjection du ventricule gauche (FEVG).

Ces phénomènes peuvent être à l'origine du développement d'une insuffisance cardiaque (46), mais également d'une aggravation d'une maladie cardiaque déjà présente (47).

Syncope & Chutes

Les transitions entre les épisodes de fibrillation et les retours en rythme sinusal sont responsables d'une hypoperfusion cérébrale transitoire. Celle-ci induit une perte de conscience, caractérisée par une syncope et une chute (48).

Chez les patients âgés de plus de 75 ans, les chutes (toutes causes) représentent la première cause de décès accidentel, pourtant elles restent très négligées et banalisées (49).

Morts subites

La FA peut entraîner des morts subites par déclenchement de fibrillations ventriculaires.

VI. Diagnostic

Les patients présentant une FA peuvent être asymptomatiques, expliquant l'intérêt du dépistage des patients à risque. On évoque le diagnostic de la fibrillation atriale devant des signes cliniques évocateurs qui amènent le patient à consulter : palpitations, dyspnée, asthénie. Certains symptômes, moins fréquents, peuvent orienter le diagnosticien : douleur thoracique, fatigabilité (*mauvaise tolérance à l'effort*), malaise et syncope.

Le diagnostic est également systématiquement évoqué chez un patient de plus de 65 ans lors de signes évocateurs à l'auscultation (*battements cardiaques irréguliers, tachycardie*). Enfin, ce diagnostic peut être évoqué devant une complication classique de FA : épisode thromboembolique artériel (AVC/AIT, embolie artérielle) ou une poussée d'insuffisance cardiaque.

Pour affirmer le diagnostic de FA, la réalisation d'un ECG 12 dérivations est obligatoire et systématique. Ce diagnostic nécessite la présence de FA pendant plus de 30 secondes sur un tracé ECG.

Cet ECG doit montrer des signes caractéristiques de FA, à savoir :

- Tachycardie à QRS fins et irrégulièrement irréguliers
- Absence d'onde P
- Trémulation de la ligne de base, causée par la présence d'ondes f (fibrillaires) entre les complexes QRS

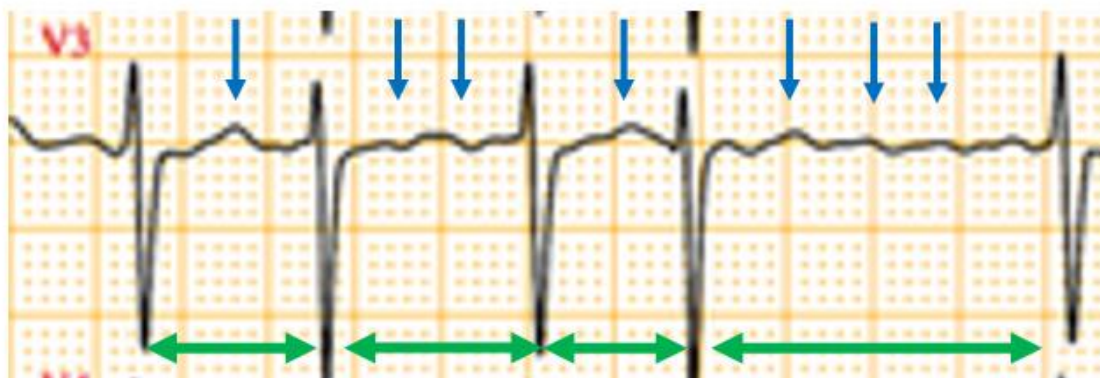


Figure 10 : ECG caractéristique d'une fibrillation atriale- Dérivation V3. En vert, QRS fins & irréguliers, en bleu, la mise en évidence des ondes fibrillaires. Issu d'un tracé de 10 secondes avec 24 intervalles R-R soit FC = 144 bpm

En cas d'ECG non évocateur, il est conseillé d'obtenir un avis cardiologique, la réalisation d'un nouvel ECG et/ou la réalisation d'examens complémentaires, notamment un Holter, pour documenter la FA.

Une fois le diagnostic établi, on recherche dans un premier temps des signes d'instabilité hémodynamiques, pour décider de la nécessité d'une hospitalisation, à savoir :

- Des signes d'insuffisance cardiaque nouvellement apparus ou aggravés
- Un œdème pulmonaire
- Un angor d'apparition récente ou aggravée
- Une hypotension artérielle mal tolérée

Enfin, on recherche une cause déclenchante de F, car 60% des FA sont des FA secondaires. C'est la raison pour laquelle on recherche à l'interrogatoire et par un bilan biologique (*TSH, Kaliémie, Hémogramme*) des facteurs déclenchants la survenue d'une FA.

Parcours de soins en France

(selon HAS - “Guide parcours de soins Fibrillation atriale,” n.d.) et selon (51)

Après le diagnostic confirmé, il est nécessaire d’effectuer un bilan cardiologique pour rechercher une pathologie cardiologique sous-jacente nécessitant un traitement spécifique (*valvulopathie en particulier mitrale, une insuffisance cardiaque, une insuffisance coronarienne ou autre cardiopathie*). Ce bilan permet également de proposer une stratégie thérapeutique. Il comporte :

- Une échographie transthoracique (ETT) ou transoesophagienne (ETO) permettant de rechercher un thrombus intracardiaque, une valvulopathie, une atteinte cardiaque responsable de la FA, d’évaluer le retentissement de la FA et d’évaluer la taille de l’oreillette gauche (OG) et la fonction ventriculaire gauche par l’intermédiaire de la fraction d’éjection du ventricule gauche (FEVG)
- Une épreuve d’effort en cas de FA induite par l’effort pour en étudier les répercussions si elle n’est pas encore documentée
- Un enregistrement Holter en cas de suspicion de FA paroxystique. Toute arythmie présentant les caractéristiques ECG de la FA durant plus de 30 secondes est considéré comme une FA.

I. Stratégie de traitement

La prise en charge de la FA repose sur une stratégie globale dite « ABC » pour « Atrial fibrillation Better Care »,(52) où :

- A correspond à « Avoid Stroke », qui repose sur l'utilisation des scores de risques de complications thromboemboliques et hémorragiques pour une bonne utilisation des traitements anticoagulants
- B correspond à « Better management », à savoir contrôle du rythme ou de la fréquence cardiaque
- C correspond à « Cardiovascular and Comorbidity optimization », c'est-à-dire identification et correction des facteurs de risques et de comorbidité.

Il a été démontré que ce parcours patient réduit significativement la mortalité toutes causes, les AVC, les complications hémorragiques, les hospitalisations cardiovasculaires et les décès. (53)

Si le traitement de contrôle de la fréquence cardiaque seul suffit à soulager les symptômes, il peut être suffisant. Si la FA demeure symptomatique, la restauration du rythme sinusal, notamment chez les patients jeunes, doit être envisagée. Ses chances de succès sont d'autant plus importantes que la FA est d'apparition récente.

II. Anticoagulation :

La décision d'instaurer ou non un traitement anticoagulant chez les patients souffrant de fibrillation auriculaire est basé sur un algorithme de décision prenant en compte le risque de complications thromboemboliques en l'absence de traitement anticoagulant et le risque de complications hémorragiques en cas d'instauration de traitement anticoagulant. De la balance entre ces deux scores, le praticien décide ou non d'instaurer un traitement anticoagulant.

Chez les patients souffrants de FA valvulaire, le risque thrombotique est si important qu'un traitement au long cours par anticoagulant est systématique (par un antivitamine K (AVK)).

Evaluation du risque Thromboembolique, selon CHADVASC :

Ce score est basé sur un système de points selon les facteurs de risque. Il permet de quantifier le risque thromboembolique artériel chez les patients avec FA non valvulaire.

Score CHA2DS2-VASc		
Facteurs de risque thromboembolique (patient sans FA Valvulaire)	Facteur de risque	Contribution au score
IC congestive ou Dysfonction ventriculaire gauche	Significatif	1
HTA		1
Age > 75 ans	Majeur	2
65 – 74 ans	Significatif	1
Diabète	Significatif	1
AVC ou AIT	Majeur	2
Atteinte vasculaire (IDM, Artériopathie périphérique)	Significatif	1
Sexe Féminin	Significatif	1
Score CHA2DS2-VASc maximal		9

Tableau I : Tableau du score de CHA₂DS₂-VASc. European Society of Cardiology (2012)

Le score CHA2DS2-VASc est fortement corrélé au risque de survenue d'un AVC :

- Risque de 1% par an en cas de score = 0
- Risque de 3% par an en cas de score = 3
- Risque de 15% par an en cas de score = 9

Plus le score présente une valeur élevée, plus le risque de développement de complications thromboemboliques augmente, c'est la raison pour laquelle une anticoagulation est indiquée en cas de score > 1 chez l'homme et > 2 chez la femme. Pour un score égal à 1 chez l'homme ou à 2 chez la femme, l'anticoagulation est discutée en fonction de l'évaluation du rapport bénéfice/risque grâce à d'autres scores (*HAS-BLED +++*).

	Score CHA2DS2-VASc	Traitement anticoagulant (TAC)
Homme	= 0	<i>Pas de TAC</i>
	= 1	<i>Discutable</i>
	> 1	<i>TAC indiscutable</i>
Femme	= 1	<i>Pas de TAC</i>
	= 2	<i>Discutable</i>
	> 2	<i>TAC indiscutable</i>

Tableau 2 : Interprétation du score CHA2DS2-VASc dans la décision d'instauration d'un traitement anticoagulant. *Discutable = évaluer le rapport bénéfice/risque avec d'autres scores (HASBLED, HEMMORAGE...).*

Chez les patients âgés de plus de 75 ans, la FA est fréquente et généralement asymptomatique, donc de découverte fortuite ou à l'occasion d'une complication. Elle comporte un risque thromboembolique élevé justifiant un traitement anticoagulant, sauf contre-indication « vraie » exposant à un risque hémorragique plus élevé. Le contrôle de la fréquence cardiaque étant difficile à obtenir pharmacologiquement, d'autant plus si la FA est ancienne.

Evaluation du risque hémorragique selon HAS-BLED :

Le Score HAS-BLED, littéralement « a saigné » évalue le risque d'hémorragie majeure à 1 an chez le patient atteint de fibrillation atriale. Il évalue des données cliniques ainsi que les capacités d'élimination des médicaments chez le patient traité par anticoagulant. (54)

Score HAS-BLED		
H	<i>Hypertension</i> Hypertension artérielle systolique > 160 mmHg	1
A	<i>Abnorbal Liver/Hepatitis</i>	1
	Dysfonction rénale (<i>dialyse, greffe ou créatininémie > 200 mM</i>) Dysfonction hépatique (<i>Hépatopathie chronique ou anomalie biologique significative</i>)	1
S	<i>Stroke</i> Antécédent d'AVC	1
B	<i>Bleeding</i> Prédisposition aux hémorragies (<i>Antécédents hémorragiques, anémie chronique ...</i>)	1
L	<i>Labile INR</i> INR instable sous AVK	1
E	<i>Eldery</i> Age > 65 ans	1
D	<i>Drugs & Alcool (1 pt each)</i>	1
	Drogues et traitements favorisant les saignements (<i>AINS, AAP ...</i>) Ou Alcoolisme	1

Tableau 3 : Score de HAS-BLED

L'interprétation de ce score se fait en utilisant le tableau ci-dessous. On considère que le patient présente un risque majeur de développer un saignement hémorragique dès lors que le score est ≥ 3 .

Score total	Hémorragies/100 patients par an
0	1.13
1	1.02
2	1.88
3	3.74
4	8.7
5	12.5

Tableau 4 : Interprétation du score de HAS-BLED en fonction du risque hémorragique.

Il a été montré que l'utilisation de ce score, plus simple d'utilisation que ses prédécesseurs (55), augmentait la capacité prédictive quant à la survenue d'un accident hémorragique grave, permettant d'en diminuer la fréquence et d'augmenter la survie des patients, comparé aux autres scores disponibles (HEMORR₂HAGES & ATRIA) (56).

L'évaluation du risque hémorragique seul n'a pas de place dans la décision de la mise en place d'un traitement antithrombotique. Un score de HAS-BLED élevé ne caractérise pas en soi une contre-indication à un traitement anticoagulant.

Chez les patients avec un risque hémorragique important mais dont l'instauration d'un traitement anticoagulant a quand même été décidé, il convient d'intensifier le suivi, d'autant plus si le traitement instauré est un antivitamine K (AVK).

Traitements disponibles

AVK :

La vitamine K est une vitamine liposoluble apportée par l'alimentation (20%) ou synthétisée par la flore intestinale (80%). Son absorption est étroitement liée à la fonction biliaire.

Les AVK, administrés par voie orale, ont pour action de bloquer la vitamine K époxyréductase en empêchant la régénération de la forme réduite de la vitamine K, intervenant dans l'activation de certains facteurs de la coagulation (prothrombine, proconvertine, facteur Stuart, facteur anti hémophilique B et les protéines C et S) (57). Ainsi, ces facteurs sont « inhibés » conduisant à une augmentation du temps de coagulation, exploré par le temps de prothrombine ou le temps de Quick. Dans un but de normalisation des valeurs, l'organisation mondiale de la santé a approuvé une thromboplastine standard permettant de calibrer les valeurs obtenues : l'INR (International Normalized Ratio). (58) Cet INR, permettant d'exprimer l'action des AVK en tenant compte du type de thromboplastine correspondant à une sensibilité donnée est donné par la formule :

$$INR = \frac{\text{Temps de Quick du patient}}{\text{Temps de Quick témoin}} \times ISI \quad \text{Avec ISI représentant l'index international de}$$

sensibilité de la thromboplastine utilisée.

En France, les molécules commercialisées disponibles sont :

- Les dérivés coumariniques :
 - Acénocoumarol (Sintron® 4mg et Minisintron® 1mg)
 - Warfarine (Coumadine® 2 et 5 mg)
- Le dérivé de l'indanedione : Fluindione (Previscan® 20 mg)

Selon la molécule utilisée, la demi-vie d'action est de 8 à 45 heures, l'équilibre du traitement par AVK nécessitant plusieurs jours.

Il est à noter qu'il n'est plus recommandé en France d'instaurer un traitement par fluindione, en raison d'effets indésirables immunoallergiques rares mais souvent sévères depuis le 1^{er} décembre 2018. (59)

Anticoagulant Oral Direct (AOD) :

On distingue 3 AOD commercialisés en France :

- Un inhibiteur direct du facteur IIa : Dabigatran (Pradaxa® 110 et 150 mg)
- Les inhibiteurs directs du facteur Xa :
 - Apixaban (Eliquis® 2,5 et 5 mg)
 - Rivaroxaban (Xarelto® 10, 15 et 20 mg)

Les AOD sont des molécules administrées par voie orale. Ils permettent une action anticoagulante par action inhibitrice directe des facteurs de coagulation. Le dabigatran est une prodrogue présentant une action sur la thrombine (facteur IIa). De leur côté le rivaroxaban et l'apixaban sont des inhibiteurs directs sélectifs du facteur Xa.

Il a été démontré que l'utilisation des AOD dans la prévention du risque thromboembolique dans le cadre des cardiopathies emboligènes présentent un bénéfice vis-à-vis des AVK en termes de mortalité et de saignements majeurs (en particulier les hémorragies intracrâniennes) avec une efficacité sur le risque thromboembolique équivalente (60) (61). Ces observations placent les AOD en première intention dans les FA non valvulaires. Les AVK restent le traitement de référence dans la FA valvulaire ; les AOD ne possédant pas d'indication dans leur AMM pour ce type de cardiopathie.

III. Stratégie de contrôle du rythme

L'objectif de la stratégie du contrôle du rythme est d'obtenir un retour en rythme sinusal et de le maintenir. Selon le contexte, il existe différents moyens d'y parvenir.

En phase aiguë, la première intention repose sur l'administration de traitements antiarythmiques, on parle de cardioversion pharmacologique. La cardioversion électrique est indiquée en cas d'échec médicamenteux

Chez le patient chronique, l'option pharmacologique par utilisation d'antiarythmiques est également préférée. Enfin, on peut également utiliser l'option interventionnelle à travers l'ablation.

Cardioversion pharmacologique (62)

La cardioversion médicamenteuse reste la technique la plus employée. L'introduction d'un traitement antiarythmique se fait en milieu hospitalier et sous monitoring cardiaque. Ces médicaments, utilisés pour la conversion en rythme sinusal de la fibrillation auriculaire, sont classés selon leur mécanisme d'action par la classification de Vaughan Williams (Cf. Annexe I). Les principales molécules utilisées en France sont :

- Les antiarythmiques de classe Ia : procainamide, quinidine et les antiarythmiques de classe Ic : **flécaïnide**, propafénone. Ils agissent par inhibition des canaux sodiques, ce qui leur procure un effet bathmotrope négatif par un effet stabilisant de membrane et un effet dromotrope négatif. Ils sont principalement utilisés dans la prévention des récurrences de tachycardies supraventriculaires et ventriculaires, généralement dans un contexte d'urgence.
- Les antiarythmiques de classe III : **amiodarone**, dronedarone, **sotalol**. Leur activité repose principalement sur l'inhibition des canaux potassiques, provoquant une augmentation du temps de repolarisation et donc une augmentation du temps de la durée du potentiel d'action, caractérisée à l'ECG par une augmentation du complexe QRS (63). Cependant, les deux molécules principalement utilisées (*amiodarone et sotalol*) présentent des actions additionnelles « extra-classes ».
 - L'amiodarone permet, en sus de son action inhibitrice des courants potassiques, une inhibition des courants sodiques (classe I), un antagonisme beta et alpha adrénergique (classe II), une inhibition calcique faible (classe IV) et une inhibition de la conversion de la thyroxine libre (T_{4L}) en triiodothyronine (T_3).

- Le sotalol est un bêta-bloquant, il possède donc une action antagoniste compétitive des récepteurs beta adrénergiques (classe II)

Ces deux molécules (amiodarone et sotalol) sont les deux AAR majeurs utilisés chroniquement sur la plupart des troubles du rythme chez l'adulte et l'enfant. De par son profil pharmacocinétique, l'amiodarone nécessite d'attendre 6 semaines avant d'observer un effet clinique maximal (64) car elle présente une demi-vie très longue, d'où son absence d'intérêt dans la prise en charge aiguë de la FA, sauf si on initialise le traitement avec une dose de charge, en milieu hospitaliser.

Toutes ces molécules sont efficaces chez environ 50 à 60% des patients, ce qui témoigne d'une efficacité modeste. De plus, toutes ces molécules présentent de nombreux risques, limitant parfois leur utilisation. D'un côté, ces molécules peuvent paradoxalement se révéler pro-arythmiques, surtout quand elles sont utilisées conjointement (65). De l'autre, certains effets indésirables témoignent d'une mauvaise tolérance du traitement par les patients (par exemple *l'amiodarone, provoque des répercussions sur la sphère pulmonaire (pneumopathies interstitielles), dermatologique (photosensibilisation) et hormonale (dysthyroïdies iatrogènes) etc.*)(66). Enfin, si une instauration de traitement est décidée, il est nécessaire de mettre en place régulièrement des examens de contrôle de l'efficacité et de la tolérance du traitement.

Les complications les plus fréquentes au cours de la cardioversion pharmacologique sont une bradycardie et une pro arythmie ventriculaire. D'autres événements sont également retrouvés : prolongation du QT, torsades de pointes & fibrillation ventriculaire, insuffisance cardiaque, réponse ventriculaire rapide, hypotension. Ces risques sont surtout exprimés dans les 24 premières heures du traitement. (67)

Ces éléments conduisent à la nécessité d'une estimation du rapport bénéfice-risque pour le patient, qui peut être en la défaveur d'une instauration de ces molécules.

Il est à noter que de nombreuses recherches concernant la sphère antiarythmique sont encore en cours, mais sans grand succès. Par exemple, un antiarythmique récent, le vernakalant (68) a obtenu une AMM européenne pour la cardioversion (69) en 2010, mais son service médical rendu, réévalué en 2015 par la commission de transparence de la HAS a été jugé insuffisant. Il n'est

donc pas remboursé par la sécurité sociale et n'a actuellement pas sa place dans la stratégie thérapeutique.

Cardioversion électrique

La cardioversion est indiquée dans le contexte aiguë de la FA, après échec des thérapeutiques médicamenteuses. Comme elle expose à un risque d'épisode thromboembolique élevé pendant 4 semaines après sa réalisation (70), il est nécessaire de valider au moins une des trois conditions suivantes avant la réalisation de la cardioversion :

- Anticoagulation efficace pendant 3 semaines
- Réalisation d'une échographie transoesophagienne témoignant de l'absence de thrombus intra-auriculaire gauche
- Début de la FA parfaitement datable de moins de 48 heures (*rarement possible*).

Après sa réalisation, une anticoagulation efficace de 4 semaines est maintenue, quel que soit le score CHA₂DS₂-VASc. Au-delà, le traitement anticoagulant peut être suspendu.

La cardioversion électrique externe est recommandée après échec médicamenteux de contrôle du rythme. Elle est réalisée sous anesthésie générale, de manière ambulatoire et repose sur l'utilisation de deux électrodes placées toutes les deux sur la cage thoracique ou de part et d'autre du tronc. Une décharge électrique de 100 à 360 joules est administrée. Le cœur est alors momentanément réfractaire à toutes nouvelles dépolarisations. Ensuite, le courant pacemaker du nœud sinusal reprend le contrôle du rythme cardiaque, ce qui permet l'interruption de la FA et de rétablir le rythme cardiaque sinusal. Cette technique est très efficace sur les tachycardies résultant de phénomènes de ré-entrée mais son efficacité est plus modeste sur les tachycardies d'automatisme car le rythme qui s'ensuit est une reprise de la tachycardie automatique. (71).

Cette technique présente un taux de succès de 55% mais il diminue avec l'ancienneté de l'arythmie et/ou la présence d'autres facteurs (*dilatation des oreillettes cardiaques, atteintes valvulaires, obésité*). De plus, elle expose à des risques de thromboses, de brûlures cutanées thoraciques, voire de chylothorax, une accumulation de lymphes dans l'espace pleural. (72).

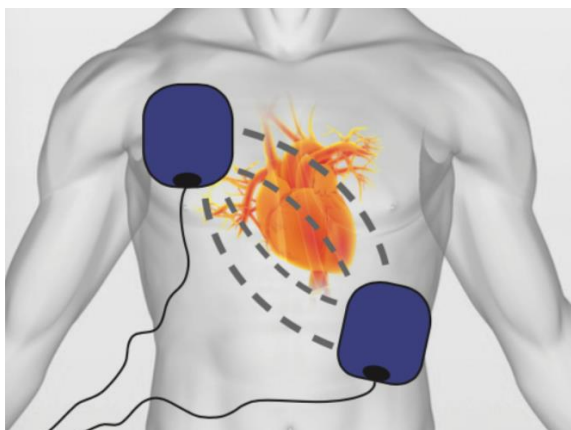


Figure 11 : Disposition des électrodes nécessaires à la réalisation de la cardioversion électrique. <https://centre.chl.lu>

Contrôle de la fréquence cardiaque

Lorsque la cardioversion n'est pas indiquée ou a échoué et que le rythme ventriculaire est trop rapide, le contrôle de la fréquence cardiaque doit être envisagé. L'objectif est un retour à une fréquence comprise entre 80 et 110 battements/minutes.

En première intention, ce contrôle doit être assuré par l'instauration d'un bêta-bloquant. En cas de contre-indication aux bêta-bloquants et d'absence d'insuffisance cardiaque associée, ce contrôle de la fréquence cardiaque peut être obtenu à l'aide d'un inhibiteur calcique à tropisme cardiaque, n'appartenant pas à la famille des dihydropyridines (vérapamil & diltiazem).

Ablation

L'indication de l'ablation est réservée aux patients souffrants d'une FA paroxystique récidivante symptomatique ou de FA persistante symptomatique. Lorsque la FA est dépendante d'une voie anormale spécifique ou d'un foyer ectopique automatique, le site d'intérêt peut être éliminé par une méthode d'ablation, permettant de créer un bloc cardiaque sur une zone déterminée. Elle est réalisée par cathétérisme veineux et permet de nécroser une région de < 1 cm de diamètre et d'un centimètre de profondeur par utilisation d'énergie de radiofréquence de 300 – 750 MHz, conduisant à sa nécrose ou par l'intermédiaire d'un cryo-ballon qui brule les tissus à -70°C.

L'utilisation de cette technique lourde et invasive est réservée après échec du traitement pharmacologique. Il s'agit néanmoins du traitement le plus efficace actuellement disponible, car il présente un taux de succès de 70%. (73) Cependant, d'autres foyer ectopiques peuvent émerger, conduisant à la réapparition de la FA : le taux de rechute à 5 ans est supérieur à 80% (74).

Les principaux risques liés à l'intervention sont liés à la fois à la chirurgie et à la technique en elle-même. Les principales complications sont : l'hématome inguinal (2-3%) l'AVC (< 0,5%) et l'épanchement péricardique (< 0,5%) (75).

IV. Nouveau traitement chirurgical

Fermeture de l'auricule gauche (76)

La fermeture percutanée de l'auricule gauche reste un traitement encore très peu utilisé, car très récent. Il est indiqué pour les FA non valvulaires avec un haut risque thromboembolique ($\text{CHA}_2\text{DS}_2\text{-VASc} \geq 4$) et chez les patients présentant une contre-indication formelle et permanente aux traitement anticoagulants (validée par un comité pluridisciplinaire) et permet de réduire le risque d'AVC.

Cette technique repose sur l'utilisation d'un dispositif inséré par voie transcutanée par cathétérisme trans septal (à travers la cloison atriale) afin de boucher l'entrée de l'auricule gauche pour éviter la formation d'un thrombus.

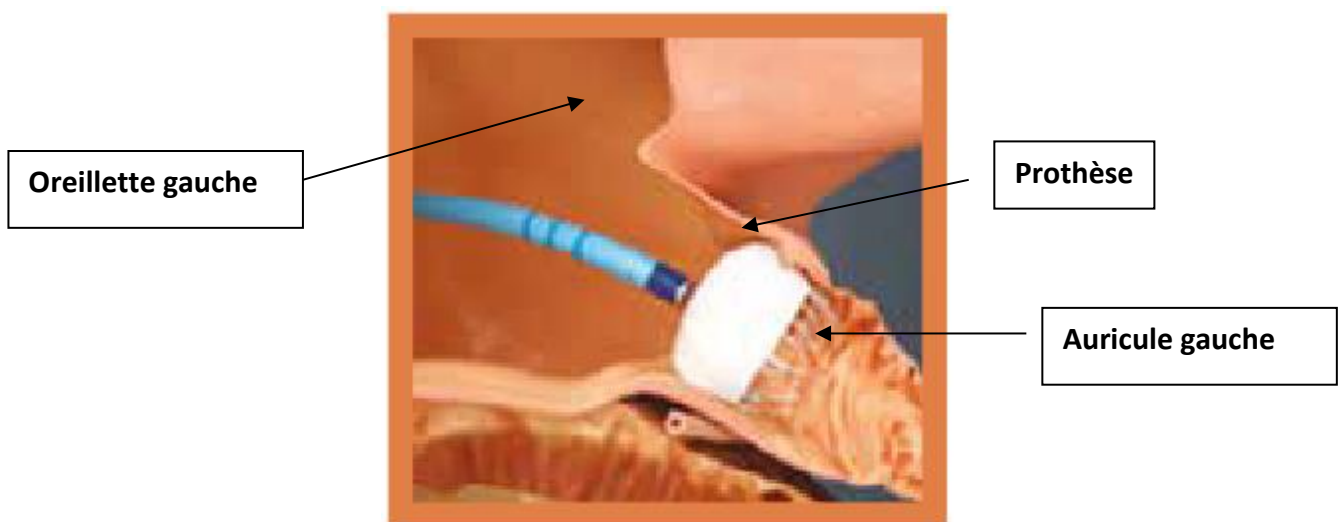


Figure 12 : Représentation schématique d'une fermeture de l'auricule gauche. <https://www.chu-lyon.fr/>

V. Conclusion sur les traitements actuellement disponibles en France

Actuellement, il n'y a pas en France de traitement pleinement satisfaisant dans la prise en charge de la fibrillation auriculaire. La prise en charge repose sur de nombreux compromis entre les bénéfices et les risques des traitements, parfois en défaveur d'une instauration de traitement, généralement dans les FA asymptomatiques. Dans ce cas, les médecins sont contraints de laisser la pathologie sans traitement, cependant, c'est en connaissance de cause que la pathologie va se développer et par conséquent rendre les futurs traitements moins efficaces si celle-ci venait à devenir symptomatique.

De plus, les molécules disponibles présentent de nombreux effets indésirables plus ou moins bien tolérés par les patients ainsi que de nombreuses interactions médicamenteuses. Chez les patients âgés (population principale retrouvée dans la prise en charge de la pathologie), la polymédication représente un défi supplémentaire devant le nombre plus important d'associations pharmacologiques potentiellement plus dangereuses que dans la population générale. Le rôle du pharmacien est alors central, dans l'évaluation et l'identification d'associations pro-arythmiques (*instauration d'Escitalopram par exemple*), pro-hémorragiques (*AVK – antifongiques azolés par exemple*) ou induisant des déséquilibres ioniques (*diurétiques ...*).

La volonté de développer un traitement curatif est donc un point essentiel dans cette maladie. On pourrait imaginer une stratégie permettant l'isolement des foyers ectopiques prenant naissance au niveau des veines pulmonaires de l'oreillette gauche. De cette manière, à l'image de l'ablation, l'oreillette gauche se retrouverait électriquement protégée des vagues de dépolarisations anarchiques générées dans les veines pulmonaires et retrouverait un fonctionnement sain. Un tel traitement permettrait également de juguler précocement la boucle d'auto-entretien de la maladie liée aux mécanismes de remodelage et d'éviter le recours à une intervention lourde comme le sont les traitements chirurgicaux.

Etat de la recherche

Il est à noter qu'il n'existe, à l'heure actuelle, aucun modèle animal d'étude de la FA reconnu internationalement. Au sein du laboratoire, il a été montré que la superfusion de noradrénaline (NA) sur des lambeaux de veines pulmonaires isolés de rat et maintenus en survie induisait l'apparition d'une activité électrique automatique (c'est-à-dire indépendante de toute stimulation électrique externe) se présentant sous la forme de potentiel d'action (67) ou de salves de contraction (68) (figure 8) :

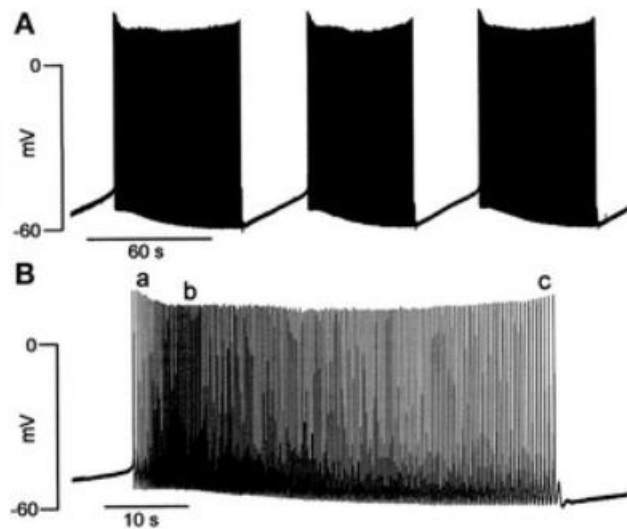


Figure 13 : Salves de potentiel d'action automatiques déclenchées par la noradrénaline (5.10^{-6} M) dans un cardiomyocyte (CM) de veines pulmonaires. (77)

A : enregistrement de salves de potentiel d'action. B : vue agrandie d'une salve représentée en figure A. Ces tracés sont obtenus par la technique de microélectrode intracellulaire.

Cet automatisme catécholaminergique (AAC) est spécifique des veines pulmonaires car il n'a pas été observé au sein des lambeaux d'oreillette gauche de ces mêmes animaux. De plus, il nécessite l'activation conjointe des récepteurs α_1 et β_1 -adrénergiques (78). Elle est spécifique des veines pulmonaires car elle n'a pas été observée au sein des lambeaux d'oreillette gauche. (78)

En effet, la noradrénaline développe un effet biphasique sur le potentiel de membrane des CM de VP non stimulés (Figure 9). Dans un premier temps, l'activation des récepteurs β_1 adrénergiques hyperpolarise la membrane des CM. L'activation des récepteurs α_1 adrénergiques dépolarise ensuite la membrane des CM jusqu'à l'atteinte d'une valeur de potentiel permettant le

déclenchement des PA automatiques. Dans les CM d'OG, cet effet biphasique de la NA n'est pas significatif, ce qui explique l'absence de déclenchement de l'AAC dans ce tissu.

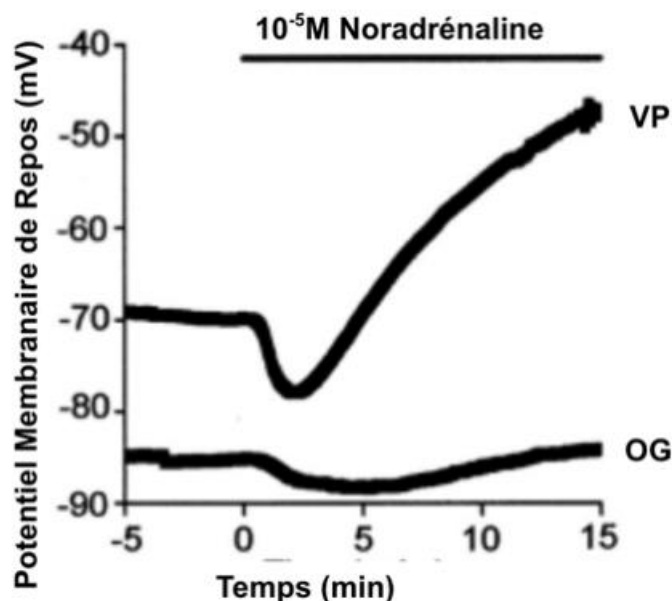


Figure 14 : Représentation de l'effet de la superfusion de noradrénaline $10^{-5}M$ sur le potentiel de membrane de repos des cardiomyocytes de veines pulmonaires et d'oreillette gauche. (77)

Plus récemment il a été montré au sein du laboratoire, sur des préparations tissulaires plus complexes constituées des veines pulmonaires et des oreillettes, que la dépolarisation provoquée par l'activation sélective des récepteurs α_1 -adrénergiques entraînait la perte de la conduction de l'activité électrique physiologique générée par le nœud sinusal de l'oreillette droite au sein des VP sans affecter la conduction électrique dans l'OG (79).

Cette découverte suggère qu'il est possible de réaliser un isolement électrique des VP par une approche pharmacologique en reproduisant les effets de l'activation des récepteurs α_1 -adrénergiques. De cette manière, il serait possible de prévenir le déclenchement des épisodes de FA paroxystique induit par les foyers ectopiques présents dans les VP. Cependant, de par l'expression ubiquitaire des récepteurs α_1 -adrénergiques dans l'organisme (80), l'utilisation d'un agoniste des récepteurs α_1 adrénergiques n'est pas envisageable pour traiter la FA. En effet, un trop grand nombre d'effets indésirables pourraient être induits (*Hypertension, incontinence urinaire, myosis* ...). Il est donc nécessaire de poursuivre ces études afin d'identifier l'effecteur final (canal, pompe ionique, échangeur ...) responsable de la dépolarisation induite par l'activation des récepteurs α_1 -adrénergiques dans les cardiomyocytes de VP, qui pourrait alors constituer une cible intéressante.

Dans toutes les cellules, la répartition des ions de part et d'autre de la membrane est inégale. La membrane des cellules étant composée d'une bi-couche lipidique imperméable aux ions, cette répartition s'explique par l'existence au sein de la membrane plasmique de protéines transmembranaires spécialisées dans le transport des ions que sont les canaux, les pompes ou les transporteurs ioniques. Le passage des ions au travers de ces protéines génère ainsi un courant ionique.

Parmi l'ensemble des ions rencontrés dans les liquides biologiques, le potassium (K^+) est celui qui joue le rôle principal dans l'établissement du potentiel membranaire de repos des CM, car il y a toujours des canaux qui restent ouverts, responsables d'une fuite en continu. En effet, le K^+ étant plus concentré dans les liquides intracellulaires que dans les liquides extracellulaires, celui-ci a tendance à sortir de la cellule. Cette sortie d'ions chargés positivement explique ainsi pourquoi au repos le potentiel de membrane des cardiomyocytes tend vers le potentiel d'équilibre de cet ion ($E_K = -87\text{mV}$) (81) (le potentiel d'équilibre d'un ion, est défini par la valeur du potentiel de membrane à laquelle le flux net de l'ion d'intérêt est nul). Le blocage d'un courant potassique participant au maintien du potentiel de membrane des CM de VP pourrait donc être à l'origine de la dépolarisation induite par l'activation des récepteurs α_1 -adrénergiques dans ces cellules.

Parmi l'ensemble des courants potassiques connus, les courants K^+ activés par l'acétylcholine ($I_{K_{ach}}$) porté par les canaux de la famille GIRK (G-protein activated inwardly rectifying K^+ current) ou encore les courants de type *TREK* (Twik Related K^+ current) portés par les canaux de la famille K_2P (Two P domain potassium channels) pourraient être impliqués dans cet effet.

Ainsi, il a été montré que la stimulation des récepteurs α_1 -adrénergiques pouvait inhiber le courant $I_{K_{ach}}$. (82). De même, les courants *TREK* qui participent au maintien du potentiel membranaire de repos et qui sont impliqués dans l'excitabilité des cardiomyocytes et des cellules nodales (83) peuvent être inhibés par des récepteurs couplés à des protéines $G_{\alpha q}$ (84), comme le sont les récepteurs α_1 -adrénergiques.

L'étude et la caractérisation de ces courants dans les cardiomyocytes de veines pulmonaires et d'oreillette gauche est donc une piste sérieuse pour comprendre une partie des mécanismes sous-jacents à l'origine du phénomène électrique provoqué par l'activation des récepteurs α_1 adrénergique dans ces cellules. Pour ce faire, l'utilisation de la tertiapine Q, un bloqueur spécifique du courant $I_{K_{ach}}$ est une option fiable et intéressante (Cf. Tertiapin Q). En effet, nous émettons

l'hypothèse que l'activation des récepteurs α_1 -adrénergiques conduit à l'isolement électrique des CM de VP de ceux d'OG en inhibant :

- 1) le courant I_{Kach} ou
- 2) Les courants de type *TREK* ou
- 3) deux types de courants : I_{Kach} et *TREK*

I. Courants d'intérêt étudiés dans ce travail

Courant I_{Kach} et Tertiapin Q

Le courant potassique activé par l'acétylcholine (I_{Kach}) est fortement exprimé dans les tissus nodaux (OG, NAV ...) (85) ainsi que dans les CM (86). Il existe 4 isoformes de protéines canal Girk1-4, codées par les gènes Kir3.1-4 (87), qui s'associent pour former des complexes tétramériques contenant les protéines Girk1 et Girk4 (figure 10) (88). Bien que l'activité du canal au niveau cardiaque soit liée à l'activité de la protéine Girk1, c'est la protéine Girk4 qui permet l'adressage du complexe à la membrane plasmique (89).

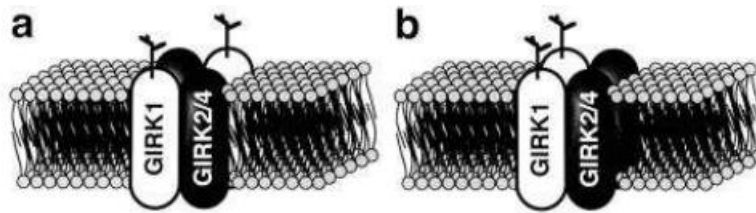


Figure 15 : Structure tétramérique de Girk1/4 (90)

Physiologiquement, ce courant est activé par les récepteurs muscariniques M_2 (91) et par le récepteur α_1 -adrénergique par une liaison directe des sous-unités $\beta\gamma$ des protéines G au complexe du canal Girk4-Girk1 (92).

Tertiapine-Q

La tertiapine est un peptide composé de 21 acides aminés. Il est extrait du venin de l'abeille *Apis mellifera* par une technique de chromatographie liquide à haute pression (HPLC) (93).

Sa structure, représentée en figure 16, a été étudiée par spectrométrie de masse et RMN (94)

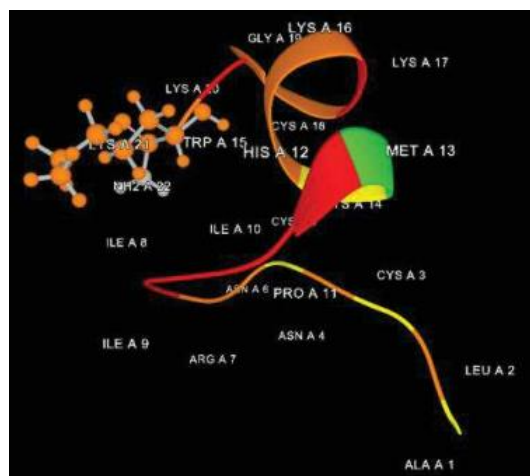


Figure 16 : Structure Secondaire de la Tertiapine. La méthionine (M13) en vert est remplacée par la glutamine pour améliorer sa stabilité. (Protein Data Base in Europe)

La tertiapine présente un effet inhibiteur de l'hétérodimère Girk1/Girk4 (responsable de l'existence du courant I_{Kach}) avec une forte affinité vis-à-vis de ce dernier ($IC_{50} = 8 \text{ nM}$). Sa sélectivité vis-à-vis des autres courants potassiques a également été étudiée sur les sous unités Kir1.1, Kir2.1, Kir3.1 et Kir3.2. Les études montrent qu'elle n'a pas d'effet significatif sur les canaux Kir2.1 alors qu'elle est capable d'une inhibition des canaux Kir1.1 ($IC_{50} = 2 \text{ nM}$), Kir3.1 et Kir 3.2. (95)

Dans le but de stabiliser ce peptide, la Tertiapine-Q a été développée en remplaçant la méthionine en position 13 par une Glutamine (96). Cette nouvelle molécule présente les mêmes effets inhibiteurs sans être soumise à l'oxydation et à la perte d'effet de la molécule originelle. (97)

Du fait de sa haute affinité et de ses propriétés inhibitrices, la tertiapine-Q est un outil de choix pour étudier et comprendre le rôle physiologique des courants I_{Kach} notamment dans la physiologie cardiaque.

Courant TREK

Le courant TREK (de l'anglais « TWIK-related K^+ channel ») est un courant ionique potassique appartenant à la famille des protéines appartenant à la famille K_{2P} (27), dont l'ouverture ne dépend pas du potentiel de membrane, génèrent des courants à rectification sortante. Au sein de cette famille, on retrouve 6 sous-groupes regroupés en fonction de leur homologie de séquence et de leurs propriétés fonctionnelles (figure 17). La famille constituant le clade des courants TREK est constitué des sous-unités $K_{2P2.1}$ (KCNK2), $K_{2P10.1}$ (KCNK10), $K_{2P4.1}$ (KCNK4) respectivement pour les courants TREK1, TREK2 et TRAAK.

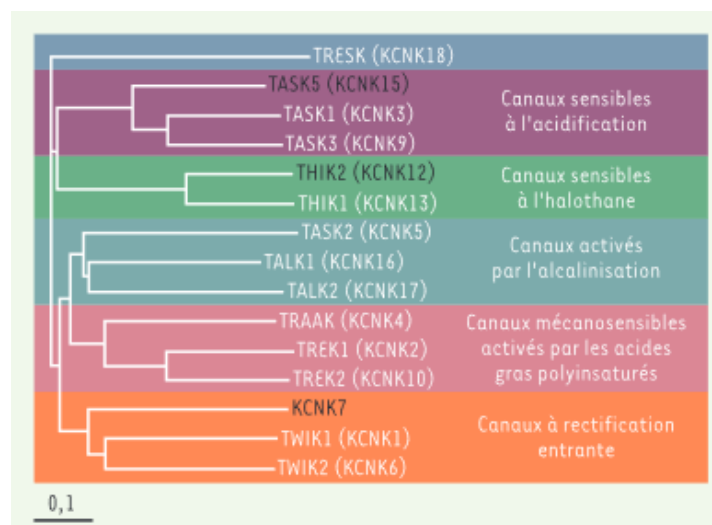
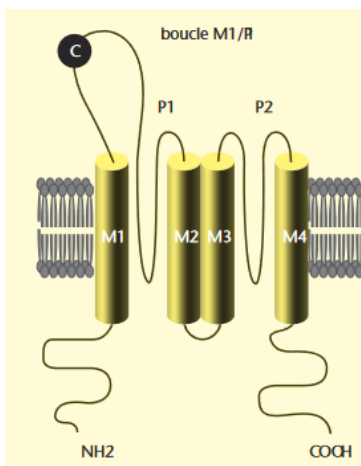


Figure 17 : Arbre phylogénétique des différentes sous-unités potassiques K-2P. (98)



Ces canaux sont formés de deux domaines P (notés P1 et P2), composés de 4 fragments transmembranaires (M1 à M4). Ils possèdent une large boucle M1P1 extracellulaire qui participe à la dimérisation des sous-unités entre-elles (99) (figure 18).

Figure 18 : Structure des canaux K-2P à 4 segments transmembranaires (M1-4) et deux domaines P (P pour pore). Source de (100)

Le sous-groupe contenant les canaux TREK 1, TREK2 et TRAAK ont des cinétiques d'activation-désactivation très rapides. Leur activité au repos est faible mais ils sont activés par une grande diversité de mécanismes. Ils sont ouverts par un étirement de la membrane cellulaire, une acidose intracellulaire (101) ou encore la chaleur (102). Ils sont également activés de manière réversible par les lysophospholipides à larges têtes polaires ou des acides gras polyinsaturés (103). Enfin, leur ouverture est modulée par des récepteurs couplés aux protéines G : la stimulation des récepteurs couplés aux protéines G_Q ou G_S inhibe TREK 1 et TREK2 tandis que l'activation des récepteurs couplés aux protéines G_i active ces canaux (103).

L'étude de ces courants est permise par l'utilisation du ML335, un activateur sélectif des courants TREK 1 (104) et TREK 2 (105) ($IC_{50} = 5,2 \mu M$ (106)). Il n'existe cependant pas de molécule inhibant sélectivement l'un ou l'autre de ces courants, ce qui complique leur étude.

Matériels et méthodes

I. Animaux utilisés

Les animaux utilisés sont des rats mâles de souche Wistar (Centre d'élevage R.Janvier, Le Genest Saint Isle, France) pesant entre 450 et 550g au moment de l'expérimentation. Ils sont hébergés à l'animalerie de la faculté de pharmacie (agrément E37-261-4) et ont accès à une nourriture standard et à l'eau de ville *ad libitum*. Ils sont acclimatés pendant une semaine à l'animalerie avant toute expérimentation. Les protocoles expérimentaux réalisés sur ces animaux ont été approuvés par le comité d'éthique du Val de Loire (APAFIS #6649_2016090711251954 v2).

II. Isolement cellulaire

Environ 15 minutes après injection intrapéritonéale de Pentobarbital à une dose de 60mg/kg et injection intraveineuse d'héparine 500 U/kg, le bloc cœur-poumon est extrait du rat par thoracotomie et placé dans une solution cardioplégique froide (en mM : NaCl 110 ; KCl 15,96 ; CaCl_2 1,19 ; MgCl_2 15,98 ; NaHCO_3 9,98 ; et Glucose 9,99) pour mettre le cœur à l'arrêt. Les sites de prélèvement de l'OG et des VP sont représentés sur la photographie ci-contre : Les VP sont prélevées au niveau des sites 1, 2, 3 et 4 ; l'OG est prélevée au niveau du site 5 (figure 19).

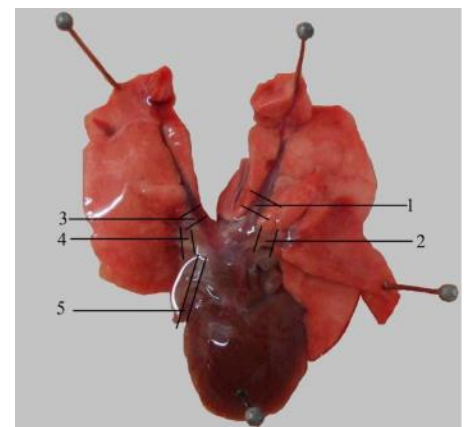


Figure 19 : Bloc Cœur-Poumon et sites de prélèvement

L'OG et les VP sont ensuite nettoyées des traces de parenchyme pulmonaire et de tissu conjonctif de manière mécanique. L'OG est découpée en morceaux de 2 mm, tandis que les VP sont ouvertes en deux dans le sens longitudinal.

Les morceaux préparés sont placés dans 2mL de KRB (en mM : NaCl 35 ; KCl 4.75 ; KH_2PO_4 1.19 ; Na_2HPO_4 16 ; NaHCO_3 25 ; Sucrose 134 ; HEPES 10 ; Glucose 10 – pH 7.4) + 2mM d'EGTA pendant 10mn à 37°C sous agitation. Ces deux préparations subissent ensuite deux digestions enzymatiques successives :

La première de ces digestions dure 30 minutes à 37°C sous apport saturant de carbogène (95% O₂, 5% CO₂) et agitation constante à 120 cycles/minutes. La préparation est placée dans une solution de KRB + 0.6U/mL de Libérase + 1U/mL de Protéase XXIV.

Après rinçage du prélèvement, la seconde digestion se fait dans les mêmes conditions d'agitation et de température en présence de 1,93 mL de KRB + 0,48U/mL de Libérase.

Afin de stopper la digestion enzymatique, la préparation est incubée avec une solution de Tyrode « 0-Ca » (en mM : NaCl 140 ; KCl 5.37; MgCl₂ 1 ; NaH₂PO₄ 0.33 ; HEPES 10 ; Glucose 10 et NaOH qsp pH 7.4) + 20% de SVF (sérum de veau fœtal) + 1% BSA (Bovine Serum Albumin) + 1%de PIC. Puis, une dissociation mécanique lente est mise en place pendant 30 minutes à température ambiante avec du Tyrode « 0-Ca » + 20% de SVF + 1% de PIC.

Enfin, la concentration de calcium est progressivement augmentée dans la solution afin d'obtenir une concentration en calcium physiologique de 1,36 mM. Cette manipulation permet d'éviter le « paradoxe calcique » : la diminution de la concentration extracellulaire de Ca²⁺ entraîne une hyperperméabilité membranaire qui est responsable d'une surcharge sodique et de pertes potassiques. Lors d'un retour à la concentration physiologique, l'échangeur Na/Ca induit une surcharge calcique nocive pour la cellule.

III. Patch Clamp en voltage-clamp

Description

Le Patch Clamp est une technique électrophysiologique permettant d'enregistrer des courants ioniques traversant la membrane plasmique pour un potentiel choisi. Elle a été mise au point par Neher et Sackmann et décrite par Hamill (1977). Elle consiste à appliquer une microélectrode de verre dont l'extrémité mesure environ 1 µm de diamètre contre la membrane plasmique de la cellule d'intérêt. Le contact entre la membrane et le verre doit être le plus étroit possible. La qualité du contact est estimée par la résistance du « seal » permettant d'estimer les fuites de courant entre la pipette et la cellule. Pour cela, on applique une légère succion pour créer une baisse de la pression à l'intérieur de la pipette et augmenter ainsi le contact entre la membrane cellulaire et le verre. Une fois le seal de 1 GΩ atteint, la fuite est considérée comme négligeable et la membrane cellulaire est rompue.

Le milieu intra pipette (MIP) remplace alors le milieu intracellulaire. Il s'agit de la configuration « Whole Cell ».

Cette technique permet de mesurer les courants ioniques pour des potentiels électriques membranaires imposés. La pipette est installée dans un portoir et connectée à un amplificateur permettant l'enregistrement des courants et l'acquisition du signal.

Une électrode de référence, placée dans le bain de Tyrode, permet de fermer le circuit électrique. Enfin, l'ensemble du dispositif est placé sur une table antivibratoire afin de réduire le bruit mécanique perturbant le signal à enregistrer. L'ensemble du dispositif est placé dans une cage de Faraday afin de s'affranchir du bruit électromagnétique généré par les appareils électriques environnants (figure 20).



Figure 20 : Présentation du poste de patch clamp utilisé pour les manipulations.

A : Seringues des solutions d'intérêt. B : Capillaire d'administration des solutions. C : Electrode de référence. D : Pompe d'aspiration. E : Caméra. F : Microscope inversé. G : Seringue de solution de rinçage de la cuve. H : Holder de pipette. I : Pipette + Fil d'argent. J : Tube de silicium pour aspiration. K : Table antivibratoire.

Conditions expérimentales

Les cardiomyocytes isolés sont déposés dans la cuve d'un microscope inversé. Cette cuve est superfusée avec une solution de « Tyrode 1,36 Ca » (en mM : NaCl 140 ; KCl 5.37 ; CaCl_2 1.36 ; MgCl_2 1 ; NaH_2PO_4 0.33 ; HEPES 10 ; Glucose 10 et NaOH qsp pH 7.4). Ainsi le milieu extracellulaire dans lequel sont immergés les cardiomyocytes est renouvelé en permanence afin de maintenir les

cellules dans des conditions de survie optimales. Les cellules contenues dans la cuve sont renouvelées par un nouveau dépôt toutes les 3 heures.

La pipette est remplie d'un milieu intra-pipette (MIP-KIR) (contenant en mM : DL-aspartic acid 115 ; KCl 25 ; MgCl_2 1 ; ATP-Mg 5 ; GTP Tris 0.1 ; NaH_2PO_4 5 ; EGTA 10 ; HEPES 10 ; pH ajusté à 7,3 avec KOH) qui présente une concentration ionique s'approchant de celle du cytoplasme.

Les expériences sont réalisées soit à température ambiante (25°C) soit à 35°C. Pour travailler à 35°C, les solutions superfusées sont chauffées au bain-marie. La température de sortie des solutions d'intérêt est vérifiée par un thermomètre.

Les pipettes de verre sont étirées extemporanément, à l'aide d'une étireuse présentée en annexe II. Leur résistance varie de 2 M Ω à 2,7 M Ω .

L'enregistrement des courants est réalisé grâce à un amplificateur AxoPatch 200A (Molecular Devices), et une interface de conversion analogique-numérique Digidata 1200. L'ensemble est connecté à un ordinateur et la visualisation et l'exploitation des données est réalisée avec le logiciel pClamp9 (Axon Instruments, USA).

Les courants mesurés sont normalisés à la capacité électrique de la membrane cellulaire afin de s'affranchir de la variabilité de taille des cellules. Les potentiels de jonction sont pris en compte et corrigés selon le logiciel JPCalc : voltage réel = voltage imposé – 16,1 mV.

Protocole de voltage clamp

Lors du voltage clamp, la variation de voltage imposée aux cellules est présentée figure 16 : Le voltage varie de -120 mV jusqu'à +60 mV selon une cinétique de 36 mV/s (rampe) permettant d'inactiver la majorité des courants rapides tels que I_{Na} , qui ne sont pas étudiés ici. A la fin de la rampe une phase de récupération est imposée à la cellule pendant 5 secondes à -70 mV.

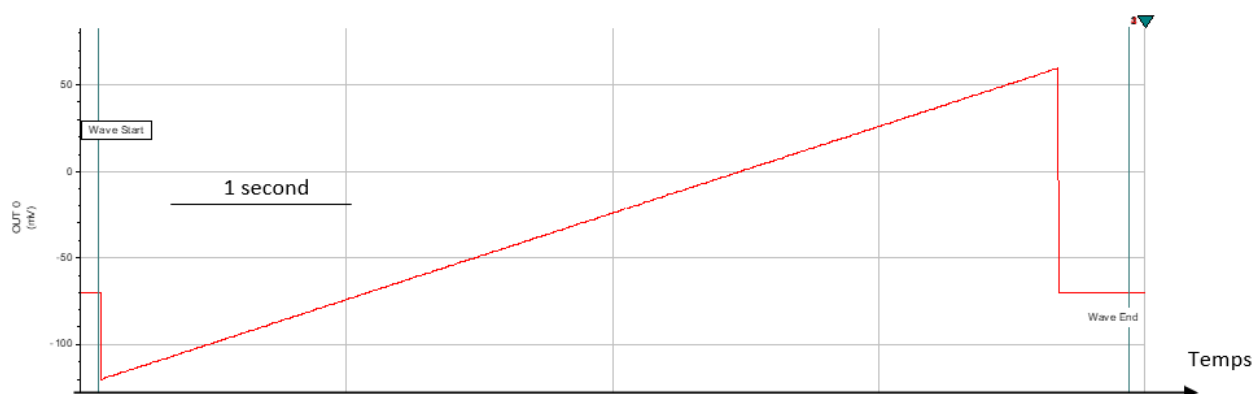


Figure 21 : Protocole de Rampe appliquée aux cardiomyocytes lors des manipulations en voltage clamp.

IV. Western Blot

Extraction et dosage des protéines totales

Les tissus sont prélevés puis découpés dans du tampon de lyse (histidine 30mM, sucrose 250mM, PMSF 100 µg/mL, cocktail d'inhibiteurs de protéases complète ULTRA (Roche) 1X, DTT 1mM) puis broyés à l'ultra-turrax (24000 tours/min) dans cette solution à 4°C. Après une étape de centrifugation (11000 g, 15 min à 4°C) le surnageant est récupéré. La concentration en protéines des échantillons est déterminée par dosage colorimétrique Bradford par rapport à une gamme étalon et après lecture des absorbances à 595 nm.

Conditions expérimentales

Les protéines sont dénaturées dans un tampon (glycérol 8%, SDS 1,6%, b-mercaptoéthanol 4%, tris-HCl 0,5M pH 6,8 10%, bleu de bromophénol 1%) chauffé dans un bain à sec 5 min à 95°C.

Une électrophorèse 1D des protéines est réalisée en conditions dénaturantes sur gel d'acrylamide 8%. Après dépôt de 30 µg de protéines par échantillon et migration, le transfert est

réalisé sur une membrane PVDF (polyvinylidene fluoride, Immobilon®-P, Millipore). Les sites de liaisons aspécifiques sont masqués en incubant les membranes avec une solution de BSA 5% en TBST (Tris Buffered Saline Tween) (en mM : 10 tris pH 7,5, 154 NaCl, 0,01% Tween). Les membranes sont ensuite incubées à 4 °C toute la nuit avec les anticorps primaires dirigés contre la β -actine au 1/2000 et TREK-1 au 1/400 (rabbit polyclonals, Alomone Labs, Jerusalem BioPark, Jerusalem, Israel) ou avec des anticorps primaires anti-GIRK-1 et anti-GIRK-4 (rabbit polyclonals, Alomone Labs, Jerusalem, Israel).

Après une étape de lavage au TBST les anticorps secondaires anti-souris et anti-lapin couplés à l'HRP (peroxydase de raifort) sont incubés (Jackson ImmunoResearch, Ely, Cambridgeshire, UK). Après lavage, la révélation se fait par réaction de chimioluminescence grâce à la réaction catalysée par la peroxydase. La lumière produite est proportionnelle à la quantité de protéines marquées. L'acquisition des données se fait via le logiciel GeneSys (Syngene) et les analyses via le logiciel ImageJ (NIH). Les résultats sont normalisés par rapport à la β -actine.

V. Microélectrode Intracellulaire

Conditions expérimentales

Après prélèvement, les veines pulmonaires associées à un segment du toit de l'OG sont mises en place selon le dispositif expérimental (figure 22). La face endocardique du tissu est orientée vers le haut. Les tissus sont maintenus dans la cuve à l'aide de minuties. Les tissus sont superfusés par un flux laminaire à 5mL/min de solution physiologique de Krebs-Henseleit (en mM : NaCl 119 ; KCl 4,7 ; CaCl₂ 1,36 ; MgSO₄ 1,17 ; KH₂PO₄ 1,18 ; NaHCO₃ 25 ; glucose 5,5, saturée en carbogène, pH 7,4) chauffée à $36 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$.

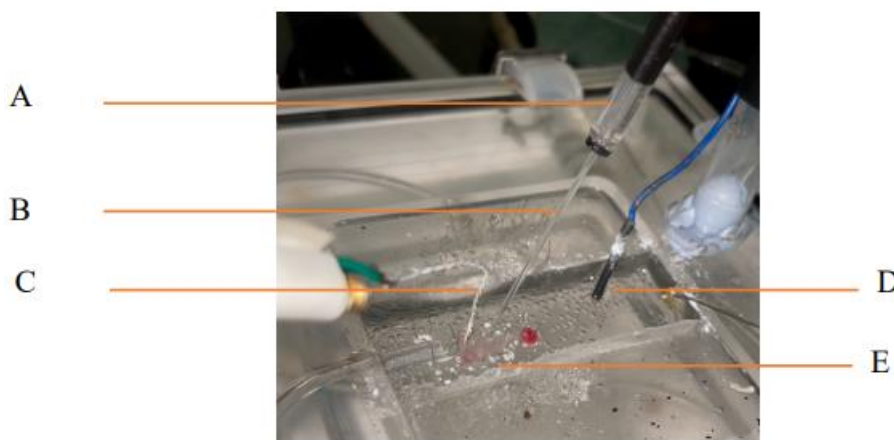


Figure 22 : Présentation du montage expérimental de microélectrode intracellulaire. A : Holder rempli de KCl (3M) B : Électrode de mesure C : Électrode de stimulation Ag/AgCl D : Électrode de référence E : Matériel biologique (VP +toit de l'OG)

La préparation est dans un premier temps stimulée électriquement au niveau du toit de l'OG par une électrode (C) appliquant une stimulation de 5 mA durant 2 ms toutes les 200 ms pendant 3 min. L'influx électrique se propage de proche en proche jusqu'à l'extrémité distale de la veine. L'électrode de mesure (B) est un capillaire de verre rempli d'une solution de KCl (3M) qui permet le contact électrique entre la cellule empalée et la pastille d'AgCl se trouvant au fond du holder (A) dans lequel les pipettes sont insérées. Le holder est relié à un amplificateur (M 707, World Precision Instruments CA, USA). Des micromanipulateurs permettent de déplacer l'électrode de stimulation et l'électrode de mesure aux endroits souhaités. Une électrode de référence (D) est placée dans le bain, le montage expérimental fonctionne en circuit fermé et est isolé du bruit électrique dans une cage de Faraday. Le signal électrique est converti par une interface analogique/numérique Powerlab

4/25 (ADInstruments) avec une fréquence d'échantillonnage de 40k/s. Il est visualisé sur ordinateur au moyen du logiciel d'acquisition Chart (version 5.4.2, ADInstruments, CA, USA).

Protocoles expérimentaux

En microélectrode, la résistance de la pipette de mesure est d'environ 20 M Ω , elle pénètre le tissu jusqu'à empalement d'un CM. La qualité de l'empalement est vérifiée par les paramètres du PA mesuré (potentiel de membrane diastolique, amplitude, durée du potentiel d'action). La stimulation électrique est ensuite arrêtée. Après stabilisation du potentiel de membrane, les solutions d'intérêt sont superfusées ce qui nous permet d'observer les effets de ces dernières sur le potentiel de membrane de repos (PMR) des CM.

VI. Origine des substances & agents pharmacologiques

Les anticorps primaires anti-K2P 2.1 (lapin, polyclonal, réf. APC-047) et anti-b-actine (souris, monoclonal, réf. B1914) proviennent respectivement de Alomone labs^a et de Santa Cruz Biotechnology. Les anticorps secondaires dirigés respectivement contre le lapin et la souris sont issus de la chèvre et sont couplés à la HRP (BioRad). Le ML-335 (réf. 6887) et la cirazoline (réf. 0888) proviennent de chez TOCRIS[®].

VII. Analyses statistiques

Toutes les représentations et le traitement des données des courbes ont été réalisés à l'aide du logiciel Origin. Les résultats sont exprimés en valeur moyennée $\pm$ SEM, de n itérations de l'expérience réalisées sur N animaux.

Sauf mention, les comparaisons de moyennes ont été réalisées à l'aide de tests statistiques de Student sur séries appariées, de Mann-Whitney (en cas de distribution non normale). Pour tous les tests, une valeur de $p < 0,05$ a été considérée comme statistiquement significative.

Résultats

Effets de l'inhibition de IK_{ACH} par la Tertiapin Q

I. Etude du niveau d'expression du canal sous tendant le courant I_{Kach} par Western Blot

Le taux de protéines GIRK1 et GIRK4 exprimé dans les CM de VP et d'OG a été évalué par Western Blot en utilisant l'OG comme contrôle.

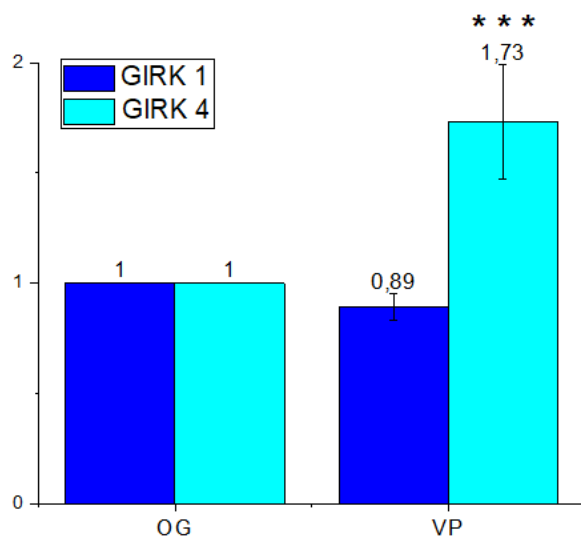


Figure 23A : Expression relative de GIRK1 et GIRK4 dans les CM de VP et d'OG (pris en référence) (n= 3, 6 rats)

*** $P < 0,001$

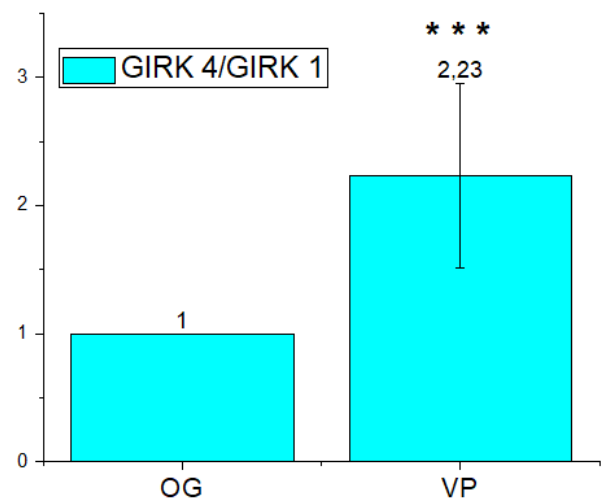


Figure 23B : Ratio d'expression du complexe GIRK 4/GIRK 1 dans les CM de VP et d'OG (n = 3, 6 rats) ***

$P < 0,001$

Les résultats présentés en figure 23A nous montrent que les protéines composant le canal responsable du courant I_{Kach} sont bien exprimées dans les deux tissus. Il est cependant notable que l'expression de la protéine GIRK4 est plus importante dans les VP que dans l'OG (1,73 fois plus dans les CM de VP que dans ceux d'OG, $p < 0.001$). Il en découle une expression du complexe homotétramérique GIRK4 plus importante dans les VP que dans l'OG (figure 23B) (Expression de 223% dans les VP comparé à l'expression dans l'OG, $p < 0.001$).

Ces observations nous confirment que les protéines responsables de l'existence du courant I_{Kach} sont bien produites dans les deux tissus. Cependant, l'adressage à la membrane plasmique (permis par la composante GIRK4) du complexe protéique sous tendant le courant I_{Kach} est plus important dans les CM de VP que dans les CM d'OG.

Ceci nous incite à penser que le courant I_{kach} présente une activité constitutive plus importante dans les CM de VP que dans les CM d'OG, puisque exprimé en proportion plus importante à la surface de la membrane plasmique. Pour nous en assurer, nous avons étudié le comportement du courant I_{kach} dans les deux tissus par technique de patch clamp.

Fonctionnalité des canaux GIRK dans les CM de VP.

Nous avons dans un premier temps, vérifié la fonctionnalité des canaux GIRK dans les cardiomyocytes de veines pulmonaires. Pour cela ces cardiomyocytes ont été superfusés successivement avec une solution de Tyrode (contrôle), puis une solution de Tyrode + carbachol 1 μ M (CCH) (agoniste muscarinique, permettant l'activation du courant I_{Kach}) puis une solution de Tyrode + CCH 1 μ M + TQ 300nM qui inhibe le courant I_{Kach} . Les résultats de ce protocole sont présentés dans la figure 24.

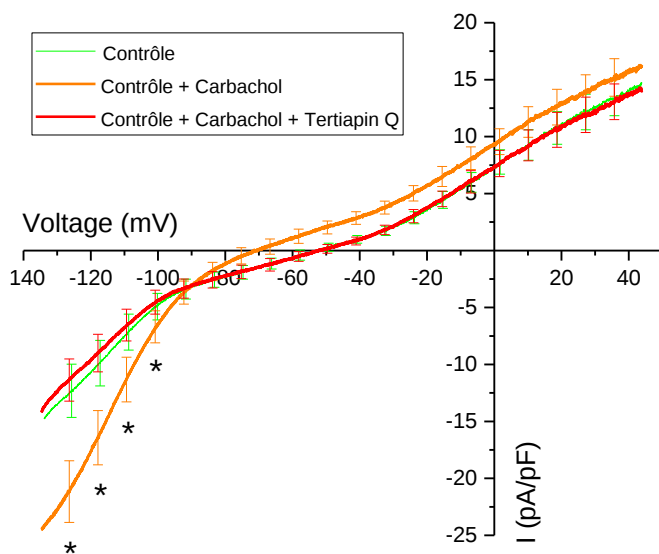


Figure 24A : Courbes Courant/Voltage moyennes des cardiomyocytes de veines pulmonaires à 25°C

N = 6

* = $p < 0,05$

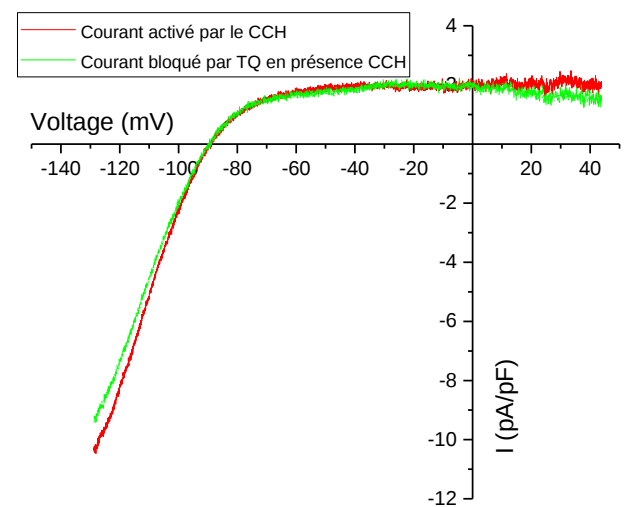


Figure 24B : Courants de différences sur cardiomyocytes de veines pulmonaires à 25°C

N = 6

L'analyse statistique montre que le CCH a augmenté significativement le courant entrant entre -135 mV et -95 mV ($p < 0,05$) (figure 24A, trace orange). De plus, l'allure du courant activé par le CCH dans les CM de VP (Figure 24B, trace rouge) présente l'allure caractéristique du courant rectifiant entrant $I_{K_{ach}}$ décrite dans la littérature (Figure 25). Ceci est confirmé par le fait que la superfusion de TQ s'est opposée à l'augmentation du courant induit par le CCH (Figure 24A trace rouge). Le courant bloqué par la TQ en présence de CCH (Figure 24B trace verte) est ainsi identique au courant activé par le CCH. On peut donc affirmer que les protéines canal GIRK qui portent le courant $I_{K_{ach}}$ sont bien fonctionnelles dans les CM de VP.

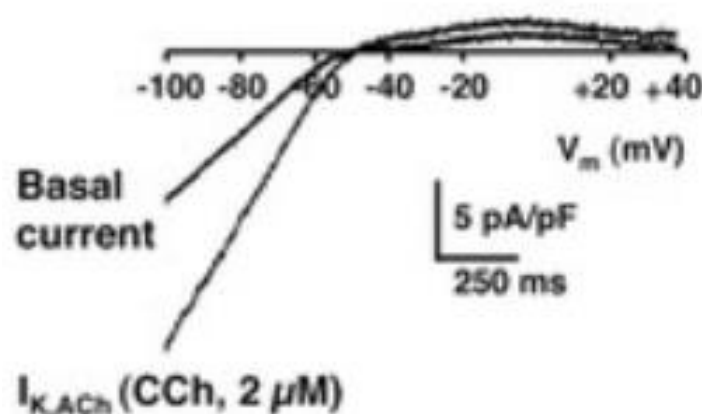


Figure 25 : Représentation du courant $I_{K_{ach}}$ par technique de patch clamp (108).

Effet propre de la Tertiapin Q dans les CM de VP

Nous avons ensuite cherché l'existence d'un courant I_{KAch} actif constitutivement dans les CM de VP. Pour cela, nous avons étudié et comparé les effets propre de la Tertiapin-Q à 300 nM dans ces deux types de CM.

Dans les CM d'OG, la superfusion de la TQ 300nM n'a pas eu d'effet sur les courants potassique de fond (Figure 26A).

Cependant, au sein des CM de VP, La Tertiapin-Q a réduit significativement ces courants de fond aux potentiels de -135 mV et -95 mV ($p < 0.036$) (Figure 26B).

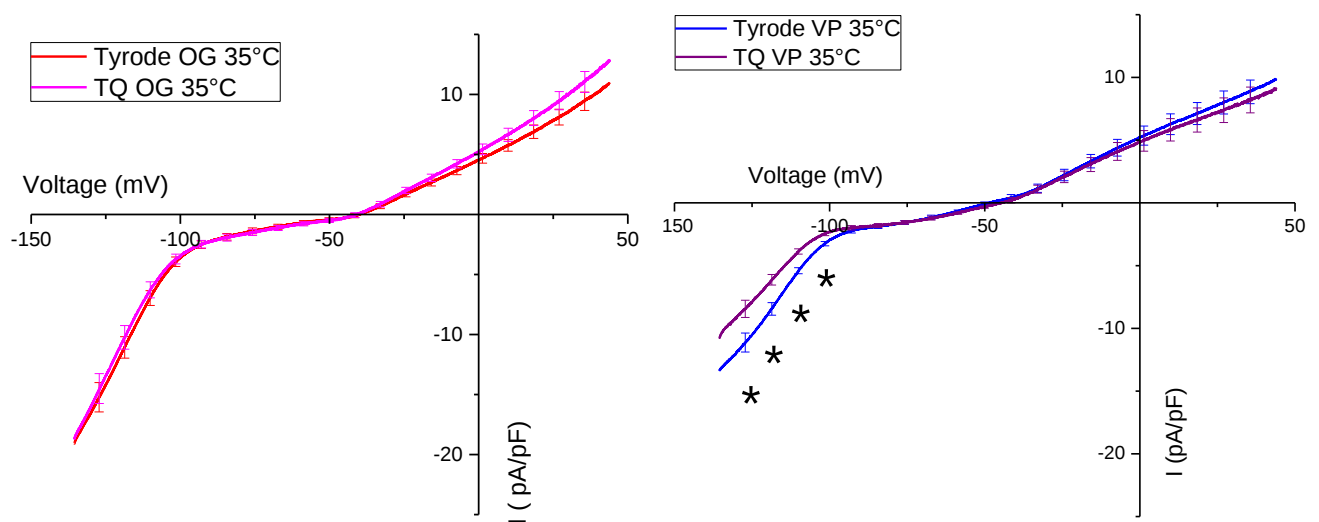


Figure 26A : Effet de la tertiapin Q sur les cardiomyocytes d'oreillette gauche
N = 16

Figure 26B : Effet de la tertiapin Q sur les cardiomyocytes de veine pulmonaire
N = 7

* = $p < 0,05$

Le courant bloqué par la TQ est obtenu par la formule : $I_{diff} = I_{Tyrode} - I_{Tertiapin\ Q}$ (figure 27) et présente l'allure caractéristique d' I_{KAch} (*cf. supra, figure 25*). De plus, le potentiel d'inversion moyen de ce courant est de $-78,3\text{ mV} \pm 6.90\text{ mV}$, ($N=7$) ce qui n'est pas statistiquement différent du potentiel d'équilibre du potassium de $-86,7\text{ mV}$ calculé dans nos conditions expérimentales d'après l'équation de Nernst.

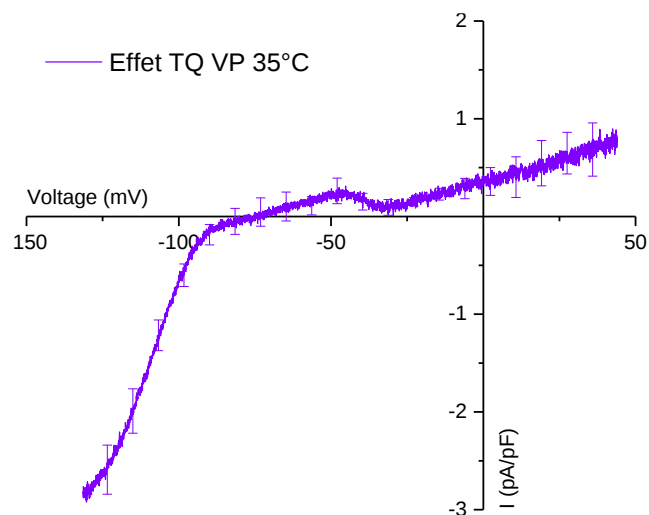


Figure 27 : Effet de la Tertiapin Q à 300 nM sur les cardiomyocytes de Veines Pulmonaires à 35°C
N = 7

Il est donc probable que le courant bloqué par la TQ dans les CM de VP soit un courant potassique puisque le potentiel d'inversion de ce courant est proche du potentiel d'équilibre de l'ion potassium. Compte tenu du potentiel d'inversion et de l'allure de ce courant et de la grande sélectivité de la TQ, il est probable qu'il s'agisse d'un courant I_{KAch} constitutivement actif. Ce courant n'est pas retrouvé dans les CM d'OG.

Nous avons ensuite étudié les conséquence du blocage de ce courant I_{KAch} par la tertiapin-Q dans les lambeaux isolés de VP et d'OG à l'aide de la technique de microélectrode.

II. Effet de la tertiapin Q sur le potentiel de membrane des CM de VP et d'OG

Dans cette nouvelle série d'expérience, nous avons réalisé l'enregistrement simultané du potentiel de membrane de repos (Diastolic Membrane Potential (DMP)) des CM de VP et d'OG sur des préparations tissulaires de rat constituées des VP et de l'OG par la technique de double microélectrodes intracellulaires. Les préparations sont soumises à des stimulations électriques de 2ms à une fréquence de 5 Hz, et superfusées par une solution physiologique contrôle puis par une solution contenant 150 nM de tertiapin Q.

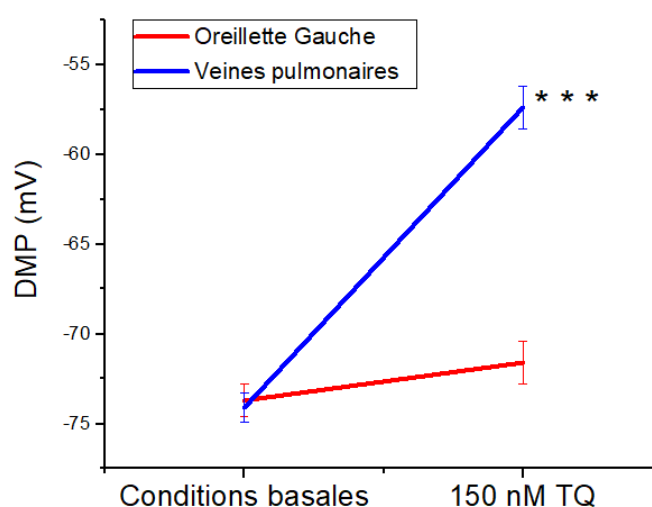


Figure 28 : Potentiel de membrane à l'équilibre des VP et des OG en conditions contrôle puis lors d'une superfusion par 150nM de TQ. (N = 10 rats) *** $p < 0.001$

La tertiapine Q à la concentration de 150 nM exerce un effet dépolarisant minime (de $-73,7 \pm 0,9$ mV à $-71,6 \pm 1,2$ mV soit $\Delta = 2,1 \pm 0,6$ mV) et non significatif sur les CM OG. La même substance est cependant responsable d'une dépolarisation importante (de $-74,1 \pm 0,8$ mV à $-57,4 \pm 1,2$ mV, soit $\Delta = 16,7 \pm 1$ mV) sur les CM de VP (Figure 28). Il existe une différence significative d'effet de la tertiapin Q sur le potentiel de membrane entre les CM d'OG et de VP ($p < 0.001$).

Ces observations montrent l'effet dépolarisant lié au blocage du courant I_{kach} constitutivement actif et nous confirment l'implication plus importante de ce courant I_{kach} dans la régulation du potentiel de membrane des CM de veines pulmonaires que dans ceux d'OG. Nous devons maintenant nous assurer que le blocage de ce courant suffit à

expliquer l'effet dépolarisant provoqué par l'activation des récepteurs α_1 -adrénergiques dans les CM de VP.

Pour ce faire, voici les résultats de deux expériences de microélectrodes lors desquelles les préparations ont été superfusées par 150 nM de TQ ou par 1 μ M de cirazoline, un agoniste des récepteurs α_1 -adrénergiques. On ne s'intéresse ici qu'au potentiel de membrane des CM de veines pulmonaires à l'équilibre après la superfusion des substances. La valeur de départ du potentiel de membrane des CM dans les deux expériences n'est pas significativement différente.

	Potentiel de membrane des VP (mV) $\pm$ SEM
1 μ M Cirazoline	- 44,1 $\pm$ 1,7 mV
150 nM tertiapin Q	- 57,2 $\pm$ 0,9 mV
Différence Cirazoline vs. TQ	+ 13,1 $\pm$ 2 mV

Tableau 5 : Potentiel de membrane à l'équilibre des VP après superfusion de 150nM de TQ (N = 13) et de 1 μ M de cirazoline (N =13).

A l'équilibre, le potentiel de membrane des veines pulmonaires est significativement différent en présence de cirazoline par rapport à la présence de tertiapin Q. L'effet dépolarisant de la cirazoline est plus marqué que celui de la tertiapin-Q, d'environ 13 mV. Ces observations nous conduisent à émettre l'hypothèse selon laquelle le blocage d'IKAch n'est pas suffisant pour expliquer les effets dépolarisants liés à l'activation des récepteurs α_1 adrénergiques. D'autres courants, qu'il reste à identifier, pourraient aussi être impliqués.

III. Premières conclusions sur l'implication de $I_{K_{ach}}$ dans l'effet dépolarisant des CM de VP et OG.

Nous avons mis en évidence l'expression des protéines sous tendant le courant $I_{K_{ach}}$ au sein des VP et des OG. Cette expression n'est cependant pas quantitativement et qualitativement la même dans ces deux tissus, et permet d'expliquer la présence d'un courant $I_{K_{ach}}$ constitutivement actif dans le CM VP, non retrouvé dans les CM d'OG. Ces différences de caractéristiques électrophysiologiques entre les CM d'OG et de VP pourrait être liées à l'origine embryonnaire différente des VP et des OG (109).

Le courant $I_{K_{ach}}$, est sortant au potentiel de repos des CM de veines pulmonaires, son blocage conduit donc à une dépolarisation des CM, comme observé sur tissu entier en présence de TQ. En effet, le blocage d'un courant sortant se traduit ici par une diminution de la sortie de charges positives de la cellule provoquant une dépolarisation.

Le blocage du courant $I_{K_{ach}}$ dans les cardiomyocytes de veines pulmonaires pourrait donc constituer une cible thérapeutique intéressante dans le traitement de la FA paroxystique, dans la mesure où ce mécanisme permet de déconnecter électriquement les VP des OG. De plus, une étude a montré que chez les patients souffrant de FA chronique, le courant $I_{K_{ach}}$ devient constitutivement actif dans les CM d'OG chez l'Homme et que ce courant est augmenté lors du remodelage causé par plusieurs pathologies cardiaques (110). Ce courant pourrait donc contribuer au développement d'autres troubles du rythme cardiaque.

Cependant, le blocage seul de $I_{K_{ach}}$ ne permet pas d'expliquer la dépolarisation induite par l'activation des récepteurs α_1 -adrénergiques. En effet, d'après les observations réalisées en microélectrodes, la dépolarisation induite par la cirazoline est plus importante que celle induite par le simple blocage de $I_{K_{ach}}$. Il est donc nécessaire de chercher un autre acteur permettant d'obtenir seul ou en complément une dépolarisation similaire à celle observée par l'action de la cirazoline. C'est la raison pour laquelle nous avons par la suite étudié le rôle potentiel du courant TREK dans les CM de VP. Il s'agit en effet d'un courant pouvant être inhibé par des récepteurs couplés à des protéines $G_{\alpha q}$ (84), comme le sont les récepteurs α_1 -adrénergiques. Ces courants sont connus comme participant au maintien du potentiel membranaire de repos et sont impliqués dans l'excitabilité des cardiomyocytes et des cellules nodales (83).

Nous nous sommes donc intéressés, dans un premier temps, à l'expression des protéines sous-tendant le courant *TREK* dans ces CM. Nous avons ensuite étudié sa fonctionnalité sur les CM isolée de VP par la technique de patch clamp en mode voltage clamp et current clamp.

Résultats de l'implication du courant TREK

I. Etude du niveau d'expression de la protéine $K_{2p2.1}$ dans les CM de VP

Parmi l'ensemble des courants de type TREK, les courants TREK1 générés par la protéine $K_{2p2.1}$ ont été mis en évidence dans les cardiomyocytes (111), les autres courants de ce type (TREK2 et TRAAK) sont peu ou pas exprimés dans ces cellules. La présence de la protéine $K_{2p2.1}$ n'ayant jamais été montrée dans les cardiomyocytes de VP, nous avons donc dans un premier temps évalué le taux de protéine $K_{2p2.1}$ exprimée à la membrane des CM de VP par Western Blot en utilisant l'OG comme contrôle.

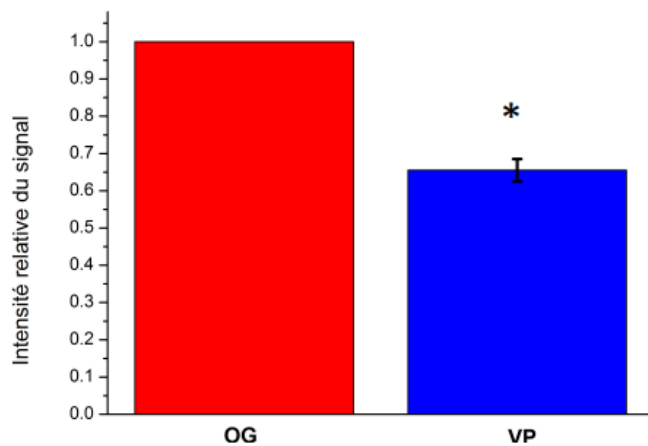


Figure 29A : Représentation de l'expression relative de la protéine $K_{2p2.1}$ dans les veines pulmonaires (VP) par rapport à l'oreillette gauche (OG) utilisée comme contrôle ($n = 4$, $N = 8$ rats), * $p = 0.03$

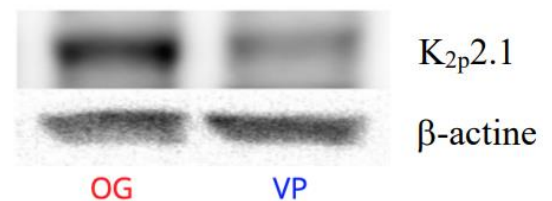


Figure 29B : Illustration du Western Blot pour la protéine $K_{2p2.1}$ et la β -actine dans les CM de veine pulmonaire (VP) et d'oreillette gauche (OG).

Les résultats présentés dans la figure 29A, montrent que les CM de VP, comme les CM d'OG, expriment la protéine $K_{2p2.1}$. Cependant, le niveau d'expression de $K_{2p2.1}$ dans les CM de VP est en moyenne inférieur de $34 \pm 3 \%$ à celui des CM d'OG ($p = 0,03$).

II. Etude de la fonctionnalité de la protéine K_{2P} 2.1 dans les CM de VP et d'OG.

Effet du ML 335 20μM sur les courants de fond des CM de VP et d'OG

La protéine K_{2P}2.1 étant exprimée dans les CM de VP et d'OG, nous avons ensuite testé sa fonctionnalité dans ces cardiomyocytes. Pour cela, nous avons étudié les effets du ML 335 à la concentration de 20 μM, un activateur sélectif des courants TREK1 et TREK2, sur les CM de VP et d'OG par la technique de patch clamp en configuration voltage-clamp.

Dans nos conditions expérimentales, nous avons ainsi observés que le ML335 à la concentration de 20 μM augmentait significativement la partie sortante des courants de fond à la fois dans les CM de VP et d'OG (figure 30A et 30B). En effet, a +50 mV le courant global sortant moyen passe de $9,05 \pm 0,54$ pA/pF en condition contrôle à $29,8 \pm 4,76$ pA/pF en présence de ML 335 dans les CM de VP ($p=0,002$) et de $7,78 \pm 2,86$ pA/pF à $24,55 \pm 6,19$ pA/pF dans ceux d'OG ($p=0,008$). Cette augmentation du courant sortant pourrait donc être expliquée par l'activation d'un courant TREK à la fois dans les CM de VP et d'OG par le ML-335.

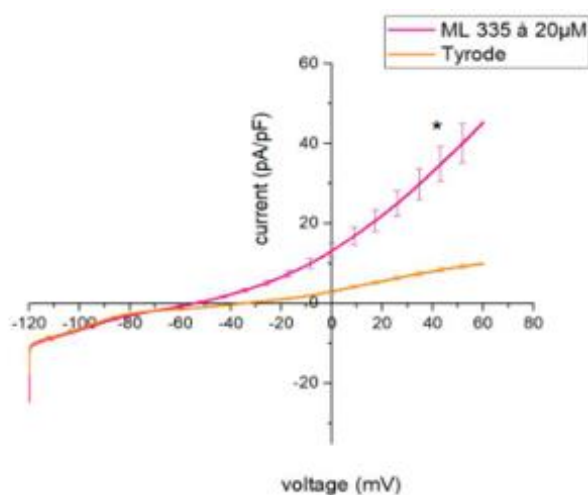


Figure 30A : Courbe IV moyenne en conditions contrôle et en présence de ML335 dans les CM de VP. (N = 6)

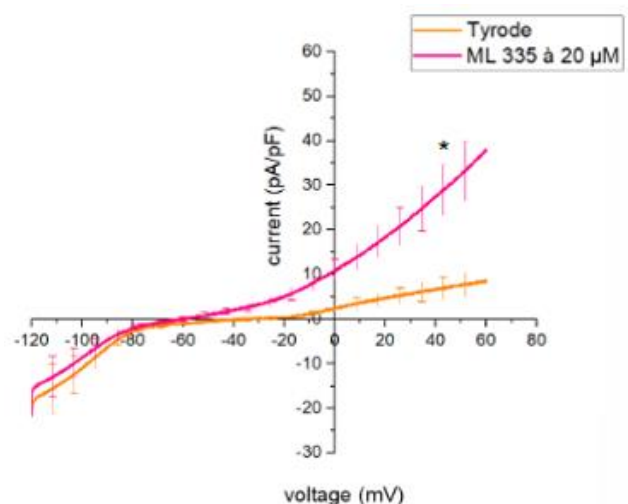


Figure 30B : Courbe IV moyenne en conditions contrôle et en présence de ML335 dans les CM d'OG. (N = 8)

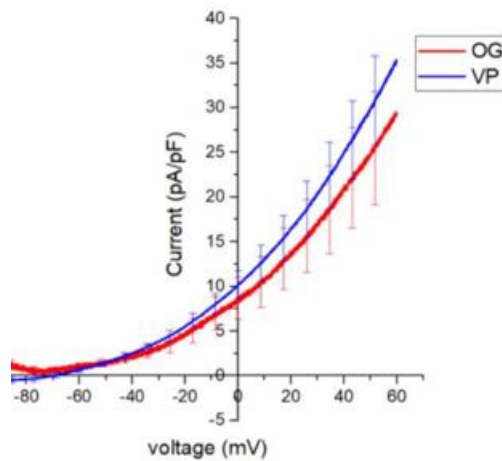


Figure 31 : Courant de différence dans les CM d'OG et de VP activé par le ML 335 à 20 μ M.
VP (N = 6) OG (N = 8).

Nous avons ensuite étudié l'allure du courant activé par le ML335 en déterminant, dans ces deux types de cardiomyocytes, le courant de différence (Figure 31) à l'aide de la formule de calcul suivante :

$$I_{\text{différence}} = I_{\text{ML 335}} - I_{\text{Tyrode}}$$

Le courant activé par le ML335 dans les CM de VP et d'OG apparait donc comme un courant sortant pour des potentiels de membrane supérieur à -80 mV caractéristique des courants de type TREK (112). De plus, nous avons observé que la densité de courant induite par le ML 335 à la concentration de 20 μ M n'est pas significativement différente dans les deux populations de CM ($p > 0,5$)

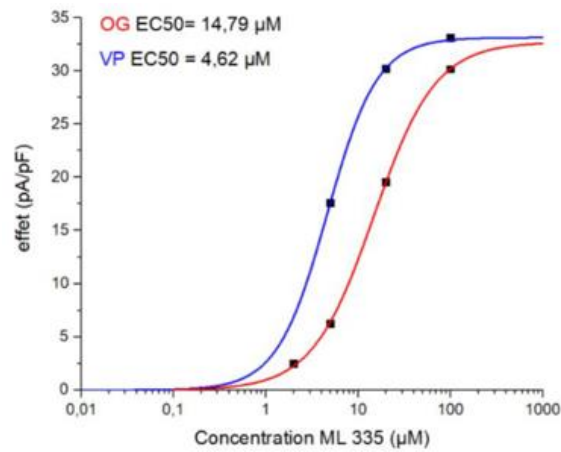


Figure 32 : Courbe concentration effet du ML 335

Nous avons ensuite réalisé une courbe concentration effet du ML335 (2 - 100 µM) dans les CM de VP et d'OG (Figure 32). Dans les CM de VP l'EC50 du ML335 est de $4,26 \pm 0,09$ µM et de $14,79 \pm 0,72$ µM dans les CM d'OG ce qui n'est pas statistiquement différent. De même, l'effet maximal du ML335 est identique dans les deux types de CM, à savoir $32 \pm 0,6$ pA/pF. L'effet du ML335 n'est donc pas significativement différent dans les CM de VP et d'OG.

Effet du ML 335 sur le potentiel de membrane des CM de VP et OG

Nous avons ensuite étudié l'effet du ML-335 sur le potentiel de membrane des CM de VP et d'OG par la technique de patch champ en configuration current clamp afin de savoir si le courant activé par cette substance contribue à la régulation du potentiel de repos de ces CM.

Dans ce protocole expérimental, les CM sont superfusés successivement par la solution de Tyrode contrôle puis par une solution de Tyrode contenant 20 μ M de ML 335.

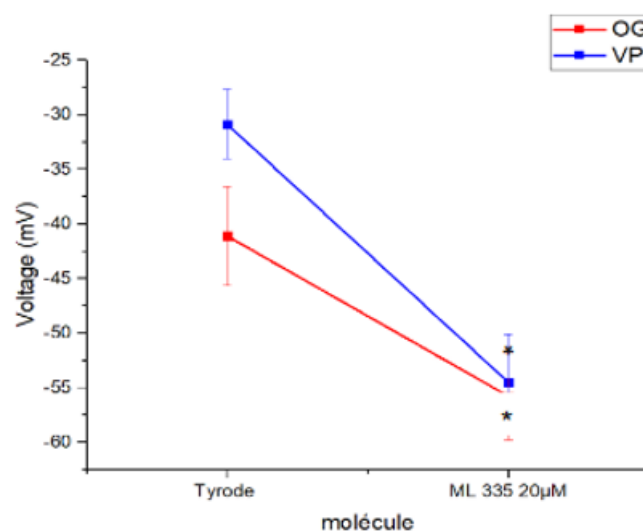
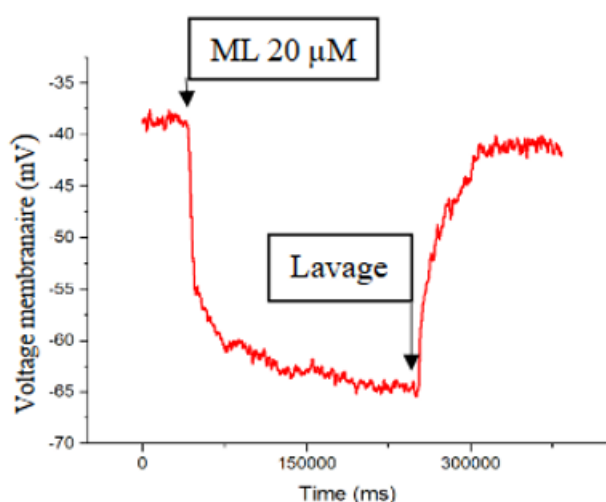


Figure 33A : Tracé de current-clamp représentatif de n=8 CM de VP

ML 20 μ M = passage de ML-335

Lavage = Lavage du ML-335 par la solution contrôle

Figure 33B : Potentiel de membrane avant et après le passage du ML 335. VP (N=8), OG (N=9). * $p < 0,05$ vs condition contrôle.

En condition contrôle, le potentiel de membrane moyen des CM de VP est de $-31,1 \pm 3,20$ mV. La superfusion de ML-335 à la concentration de 20 μ M entraîne une hyperpolarisation de la membrane des CM de VP, pour atteindre $-54,8 \pm 4,44$ mV ($p < 0,001$ vs. Tyrode). Cet effet est réversé par le lavage du ML-335 (Figure 33A).

Des résultats similaires sont obtenus dans les CM d'OG : la superfusion du ML-335 à 20 μ M impacte de manière significative le potentiel de membrane des CM d'OG de $-40 \pm 4,2$ mV à $-54,8$ mV $\pm 2,0$ mV ($p < 0,001$ vs. Tyrode).

Enfin, l'effet hyperpolarisant du ML-335 est significativement plus important sur le potentiel de membrane des CM de VP que sur celui des CM d'OG. Les différences de potentiels obtenus pour chaque type cellulaires sont :

- $\Delta OG = -14.8 \pm 2.4$ mV
- $\Delta VP = -23.6 \pm 2.51$ mV
- $p = 0.008$

Il existe donc un courant activé par le ML 335 dans les CM de VP et d'OG, qui, lors de son activation, est responsable d'une hyperpolarisation. Nos observations suggèrent que le courant impliqué dans le maintien du potentiel de repos de ces cellules est un courant de type TREK.

Effet de la cirazoline 1 μ M en présence de ML 335 sur le courant à 25°C en protocole de Voltage clamp

L'objectif de la série d'expérience suivante était de savoir si l'activation des récepteurs $\alpha 1$ -adrénergiques par la cirazoline (CRZ) était capable de bloquer le courant activé par le ML 335 dans les CM d'OG et de VP.

Les CM de VP et d'OG ont été superfusés avec du ML 335 à 20 μ M, puis lorsque l'état stationnaire a été atteint, 1 μ M de CRZ a été ajouté à la solution de perfusion. Pour chacune des populations de CM, la courbe de différence ($I_{ML335} - I_{CRZ}$) a été déterminée et représentée sur la figure 34B. Une condition contrôle a également été réalisée (Figure 34A) afin de comparer le courant bloqué par la CRZ en l'absence de ML 335 à celui en présence de ML 335.

Dans les CM de VP, la cirazoline a bloqué significativement une partie du courant activé par le ML335 (Figure 34B trace bleue) ce qui n'est pas le cas dans les CM d'OG (Figure 34B, trace rouge). Ainsi, au potentiel de +50 mV, le courant bloqué par la CRZ en présence de ML 335 dans les CM de VP est de $9,88 \pm 2,37$ pA/pF ($p = 0,006$) et de $1,5 \pm 0,63$ pA/pF dans les CM d'OG ($p=0,281$). De même, la densité de courant bloquée par la CRZ, après l'activation du courant TREK par le ML 335 est significativement plus grande dans les CM de VP que dans les CM d'OG ($p = 0,003$).

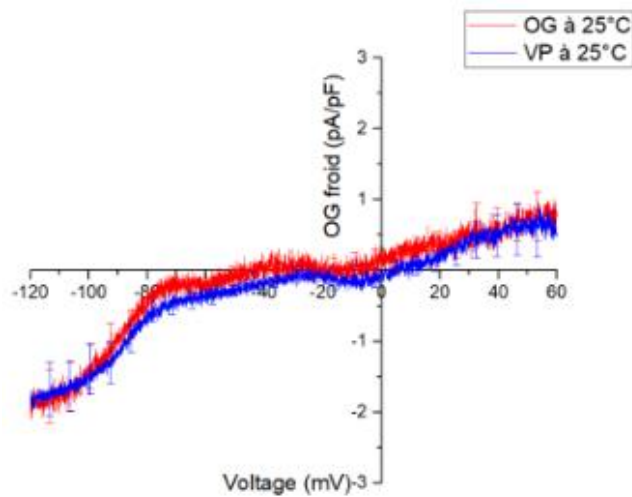


Figure 34A : Courant bloqué par la cirazoline 1 μ M en absence de ML 335 à 25°C

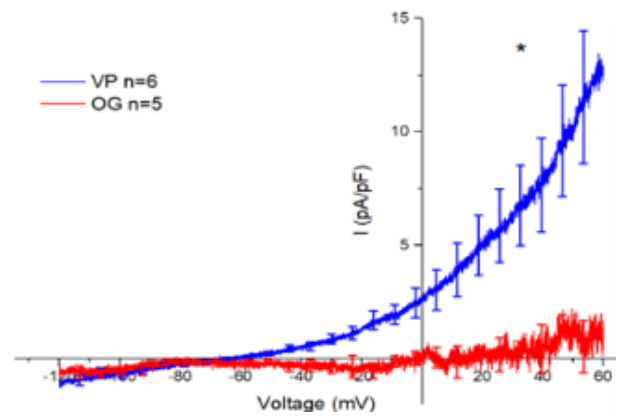


Figure 34B : Courant bloqué par la cirazoline 1 μ M en présence de ML 335 20 μ M à 25°C.

* $p < 0,05$

VP (N=6) et OG (N=5)

III. Conclusion partie ML 335

En synthèse, nos résultats montrent la présence de protéines $K_{2P2.1}$ fonctionnelles dans les CM de VP puisque l'activation de ces protéines par le ML-335 génère un courant sortant de type TREK responsable d'une hyperpolarisation de la membrane des cardiomyocytes de VP.

Bien que le courant généré par le ML-335 dans les CM de VP ne soit pas significativement différent de celui généré par le ML-335 dans les CM d'OG, nous avons observé que ce courant pouvait être bloqué par l'activation des récepteurs α_1 -adrénergiques dans les CM de VP uniquement.

L'activation du courant sortant potassique TREK conduisant à une hyperpolarisation cellulaire, nous pouvons donc supposer que l'inhibition de ce courant conduirait à une dépolarisation de la membrane cellulaire des CM de VP. A l'heure actuelle, il n'existe pas d'inhibiteur sélectif du courant *TREK* qui nous permettraient d'étudier cette hypothèse.

L'utilisation de rats $K_{2P2.1}$ KO est une piste qui pourrait se révéler intéressante pour aller plus loin dans cette étude. Un tel modèle existe déjà chez la souris (113), cependant, pour travailler chez ces animaux, il faudrait avant tout s'assurer que les cardiomyocytes de VP de souris répondent à une stimulation α_1 -adrénergique de la même manière que rats pour pouvoir extrapoler les données obtenues.

Discussion générale et perspectives

Lors de ce travail, nous nous sommes intéressés aux éléments permettant d'expliquer les effets dépolarisants associés à l'activation des récepteurs α_1 adrénergique dans les CM de VP et d'OG chez le rat. Nous avons ainsi réussi à identifier deux courants dont l'inhibition permettrait d'expliquer (au moins en partie) ces effets : le courant I_{Kach} et le courant *TREK*.

Cependant, lors de nos analyses, les comparaisons entre les CM d'un même type cellulaire (VP ou OG) ont été réalisées sur des isollements de rats différents. Cette méthode peut être soumise à des critiques, considérant le fait que ces cellules peuvent ne pas présenter les mêmes caractéristiques, liées à la variabilité du vivant, et induire de fait, un biais de sélection.

Dans nos expériences ciblant *TREK*, nous avons été contraints d'utiliser un activateur de *TREK* pour activer ce courant dans les cellules d'intérêt puisqu'il n'existe pas de bloqueurs sélectifs. On pourrait argumenter sur le fait que les effets observés soient dus à une interaction entre le ML335 et les autres molécules testées selon un modèle compétitif. Pour s'affranchir de ce doute, il faudrait réaliser nos expériences dans des conditions où *TREK* est activé physiologiquement (étirement des cellules, chaleur, variation de pH ...) pour observer les effets de l'activation des récepteurs α_1 -adrénergiques indépendamment de l'activation par le ML335. Un tel protocole est cependant très complexe à mettre en place car ces conditions impacteraient sans aucun doute le fonctionnement général de la cellule, et d'autres mécanismes non identifiables pourraient rendre très délicate l'interprétation.

Nos résultats montrent que la CRZ bloque le courant de type *TREK* activé par le ML335 uniquement dans les CM de VP et pas dans ceux d'OG. Plusieurs hypothèses permettent d'expliquer cette différence :

- Une différence d'expression des récepteurs α_1 adrénergiques entre les deux tissus. En effet, une faible quantité de récepteurs α_1 adrénergiques dans les CM d'OG peut expliquer l'absence d'effet de la CRZ.
- Une absence de co-localisation spatiale des récepteurs α_1 adrénergiques avec les canaux *TREK* expliquerait l'absence de l'effet de la CRZ sur les CM d'OG

La poursuite de cette étude pourrait consister à quantifier l'expression des récepteurs α_1 -adrénergiques présents sur les membranes des CM de VP et d'OG par méthode de biologie moléculaire (RT-PCR, WB). Ce travail pourrait être complété par une étude en microscopie confocale de la répartition spatiale des récepteurs α_1 adrénergiques et des canaux TREK dans la membrane plasmique des deux types cellulaires. Enfin, la caractérisation des acteurs impliqués dans la cascade de signalisation induite par l'activation des récepteurs α_1 adrénergiques pourrait être envisagée dans les CM de VP.

Nous avons également montré que le blocage du courant $I_{K_{Ach}}$ permettait de reproduire au moins qualitativement la dépolarisation induite par l'activation des récepteurs α_1 -adrénergiques dans les CM de VP. Cependant, nous n'avons pas démontré que l'activation de ces récepteurs permettait effectivement de bloquer ce courant dans les CM de ce tissu, ce qu'il nous faudrait aussi rechercher.

Enfin, toutes les observations développées au sein de ce travail semblent monter qu'il existe au moins deux courants impliqués dans les effets dépolarisant associés à l'activation des récepteurs α_1 -adrénergiques dans les CM de VP. Ce sont les courants $I_{K_{Ach}}$ et *TREK*. Pour s'assurer que seuls ces deux courants sont nécessaires et suffisants pour expliquer l'effet de la cirazoline sur les CM d'OG et de VP, une dernière manipulation serait nécessaire.

Cette manipulation consisterait à étudier, par la technique de microélectrode, le potentiel de membrane des CM de VP et d'OG superfusés avec une solution contenant un inhibiteur sélectif du courant TREK et de la tertiapin Q afin de comparer les variations du potentiel de membrane observées dans ces conditions à celles obtenues lors d'une superfusion de cirazoline. Dans l'option où ces deux valeurs ne seraient pas significativement différentes, on pourrait en conclure que l'activation des récepteurs α_1 -adrénergique est bien la résultante d'une inhibition concomitante de $I_{K_{Ach}}$ et *TREK*.

Bibliographie

1. Haïssaguerre M, Jaïs P, Shah DC, Takahashi A, Hocini M, Quiniou G, et al. Spontaneous Initiation of Atrial Fibrillation by Ectopic Beats Originating in the Pulmonary Veins. *N Engl J Med*. 3 sept 1998;339(10):659-66.
2. Charlemagne A, Blacher J, Cohen A, Collet JP, Diévert F, de Groote P, et al. Epidemiology of atrial fibrillation in France: extrapolation of international epidemiological data to France and analysis of French hospitalization data. *Arch Cardiovasc Dis*. févr 2011;104(2):115-24.
3. Le Heuzey JY, Otmani A, Marijon E, Waintraub X, Lepillier A, Chachoua K, et al. [Atrial fibrillation: the most common arrhythmia]. *Presse Medicale Paris Fr* 1983. mai 2008;37(5 Pt 2):821-6.
4. Maupoil V, Bronquard C, Freslon JL, Cosnay P, Findlay I. Ectopic activity in the rat pulmonary vein can arise from simultaneous activation of α 1- and β 1-adrenoceptors. *Br J Pharmacol*. avr 2007;150(7):899-905.
5. Bredeloux P, Findlay I, Pasqualin C, Hocini M, Bernus O, Maupoil V. Selective inhibition of electrical conduction within the pulmonary veins by α 1-adrenergic receptors activation in the Rat. *Sci Rep*. 25 mars 2020;10(1):5390.
6. Nesheiwat Z, Goyal A, Jagtap M. Atrial Fibrillation. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 [cité 9 nov 2023]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK526072/>
7. Fernández FA. The Atrial Fibrillation Substrate: Pulmonary Veins, Posterior Wall or Both. *Rev Esp Cardiol Engl Ed*. 1 juill 2006;59(7):643-6.
8. Kalifa J, Tanaka K, Zaitsev AV, Warren M, Vaidyanathan R, Auerbach D, et al. Mechanisms of Wave Fractionation at Boundaries of High-Frequency Excitation in the Posterior Left Atrium of the Isolated Sheep Heart During Atrial Fibrillation. *Circulation*. 7 févr 2006;113(5):626-33.
9. Lévy S. Epidemiology and classification of atrial fibrillation. *J Cardiovasc Electrophysiol*. août 1998;9(8 Suppl):S78-82.
10. CHUV [Internet]. [cité 9 nov 2023]. Anatomie et physiologie. Disponible sur: <https://www.chuv.ch/fr/transplantation/cto-home/patients-et-familles/coeur/anatomie-et-physiologie>
11. Townsley MI. Structure and composition of pulmonary arteries, capillaries, and veins. *Compr Physiol*. janv 2012;2(1):675-709.
12. Hocini M, Ho SY, Kawara T, Linnenbank AC, Potse M, Shah D, et al. Electrical Conduction in Canine Pulmonary Veins. *Circulation*. 21 mai 2002;105(20):2442-8.
13. Mangoni ME, Nargeot J. Genesis and regulation of the heart automaticity. *Physiol Rev*. juill 2008;88(3):919-82.
14. coeur [Internet]. [cité 16 févr 2023]. Disponible sur: <http://www.afblum.be/bioafb/coeur/coeur.htm>
15. Carmeliet E, Vereecke J, Carmeliet E, Vereecke J. Ionic currents and action potentials in cardiac cells. In Boston, MA: Springer US; 2002 [cité 30 mars 2023]. p. 95-177. (Basic Science for the Cardiologist; vol. 9). Disponible sur: http://link.springer.com/10.1007/978-1-4615-1715-3_4
16. Monfredi O, Maltsev VA, Lakatta EG. Modern Concepts Concerning the Origin of the Heartbeat. *Physiology*. mars 2013;28(2):74-92.
17. Baruscotti M, Bottelli G, Milanesi R, DiFrancesco JC, DiFrancesco D. HCN-related channelopathies. *Pflugers Arch*. juill 2010;460(2):405-15.
18. Spach MS. Anisotropy of cardiac tissue: a major determinant of conduction? *J Cardiovasc Electrophysiol*. juin 1999;10(6):887-90.

19. Spach MS, Kootsey JM. The nature of electrical propagation in cardiac muscle. *Am J Physiol.* janv 1983;244(1):H3-22.
20. Luo CH, Rudy Y. A model of the ventricular cardiac action potential. Depolarization, repolarization, and their interaction. *Circ Res.* juin 1991;68(6):1501-26.
21. Puglisi JL, Wang F, Bers DM. Modeling the isolated cardiac myocyte. *Prog Biophys Mol Biol.* 2004;85(2-3):163-78.
22. Patel SP, Campbell DL. Transient outward potassium current, 'I_{to}', phenotypes in the mammalian left ventricle: underlying molecular, cellular and biophysical mechanisms. *J Physiol.* 15 nov 2005;569(Pt 1):7-39.
23. Nerbonne JM, Kass RS. Molecular physiology of cardiac repolarization. *Physiol Rev.* oct 2005;85(4):1205-53.
24. Grant AO. Cardiac Ion Channels. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* avr 2009;2(2):185-94.
25. Genetic Manipulation of Cardiac K⁺ Channel Function in Mice | *Circulation Research* [Internet]. [cité 30 mars 2023]. Disponible sur: <https://www.ahajournals.org/doi/full/10.1161/hh2301.100349>
26. Sattar Y, Chhabra L. Electrocardiogram. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 [cité 30 mars 2023]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK549803/>
27. Liggett SB. Molecular and genetic basis of beta2-adrenergic receptor function. *J Allergy Clin Immunol.* août 1999;104(2 Pt 2):S42-46.
28. Mangoni ME, Nargeot J. Genesis and regulation of the heart automaticity. *Physiol Rev.* juill 2008;88(3):919-82.
29. Schotten U, Verheule S, Kirchhof P, Goette A. Pathophysiological Mechanisms of Atrial Fibrillation: A Translational Appraisal. *Physiol Rev.* janv 2011;91(1):265-325.
30. Allesie M. Experimental evaluation of Moe's multiple wavelet hypothesis of atrial fibrillation. In 1985 [cité 3 avr 2023]. Disponible sur: <https://www.semanticscholar.org/paper/Experimental-evaluation-of-Moe%27s-multiple-wavelet-Allesie/0c61c42649f5a386fc27458125024d6b838f0c85>
31. Lee KS, Marban E, Tsien RW. Inactivation of calcium channels in mammalian heart cells: joint dependence on membrane potential and intracellular calcium. *J Physiol.* juill 1985;364:395-411.
32. Cha TJ, Ehrlich JR, Chartier D, Qi XY, Xiao L, Nattel S. Kir3-based inward rectifier potassium current: potential role in atrial tachycardia remodeling effects on atrial repolarization and arrhythmias. *Circulation.* 11 avr 2006;113(14):1730-7.
33. Li D, Shinagawa K, Pang L, Leung TK, Cardin S, Wang Z, et al. Effects of angiotensin-converting enzyme inhibition on the development of the atrial fibrillation substrate in dogs with ventricular tachypacing-induced congestive heart failure. *Circulation.* 20 nov 2001;104(21):2608-14.
34. Roney CH. Challenges Associated with Interpreting Mechanisms of AF. 18 nov 2019 [cité 11 nov 2023]; Disponible sur: <https://www.aerjournal.com/articles/challenges-associated-interpreting-mechanisms-af>
35. Volgman AS, Benjamin EJ, Curtis AB, Fang MC, Lindley KJ, Naccarelli GV, et al. Women and atrial fibrillation. *J Cardiovasc Electrophysiol.* oct 2021;32(10):2793-807.
36. Colilla S, Crow A, Petkun W, Singer DE, Simon T, Liu X. Estimates of current and future incidence and prevalence of atrial fibrillation in the U.S. adult population. *Am J Cardiol.* 15 oct 2013;112(8):1142-7.
37. Fox CS, Parise H, D'Agostino RB, Lloyd-Jones DM, Vasan RS, Wang TJ, et al. Parental atrial fibrillation as a risk factor for atrial fibrillation in offspring. *JAMA.* 16 juin 2004;291(23):2851-5.
38. Dickey DM, Yoder AR, Potter LR. A familial mutation renders atrial natriuretic Peptide resistant to proteolytic degradation. *J Biol Chem.* 17 juill 2009;284(29):19196-202.

39. Kääb S, Darbar D, van Noord C, Dupuis J, Pfeufer A, Newton-Cheh C, et al. Large scale replication and meta-analysis of variants on chromosome 4q25 associated with atrial fibrillation. *Eur Heart J.* avr 2009;30(7):813-9.
40. Ragbaoui Y, Chehbouni C, Hammiri AE, Habbal R. Épidémiologie de l'association fibrillation atriale et insuffisance cardiaque. *Pan Afr Med J.* 2 mars 2017;26:116.
41. Kirchhof P, Benussi S, Kotecha D, Ahlsson A, Atar D, Casadei B, et al. 2016 ESC Guidelines for the management of atrial fibrillation developed in collaboration with EACTS. *Eur Heart J.* 7 oct 2016;37(38):2893-962.
42. VIDAL [Internet]. [cité 9 avr 2023]. L'hyperkaliémie, une origine médicamenteuse fréquente. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/actualites/29089-l-hyperkaliemie-une-origine-medicamenteuse-frequence.html>
43. Healey JS, Connolly SJ, Gold MR, Israel CW, Van Gelder IC, Capucci A, et al. Subclinical Atrial Fibrillation and the Risk of Stroke. *N Engl J Med.* 12 janv 2012;366(2):120-9.
44. Essa H, Hill AM, Lip GYH. Atrial Fibrillation and Stroke. *Card Electrophysiol Clin.* mars 2021;13(1):243-55.
45. Thacker EL, McKnight B, Psaty BM, Longstreth WT, Sitlani CM, Dublin S, et al. Atrial fibrillation and cognitive decline: a longitudinal cohort study. *Neurology.* 9 juill 2013;81(2):119-25.
46. Stewart S, Hart CL, Hole DJ, McMurray JJV. A population-based study of the long-term risks associated with atrial fibrillation: 20-year follow-up of the Renfrew/Paisley study. *Am J Med.* 1 oct 2002;113(5):359-64.
47. Khan MA, Satchithananda DK, Mamas MA. The importance of interactions between atrial fibrillation and heart failure. *Clin Med.* juin 2016;16(3):272.
48. Hussain S, Jerry C, Luck. Syncope And Atrial Fibrillation: Which Is The Chicken And Which Is The Egg? *J Atr Fibrillation.* 31 déc 2015;8(4):1175.
49. Brien HO, Kenny RA. Syncope in the Elderly. *Eur Cardiol Rev.* juill 2014;9(1):28.
50. Haute Autorité de Santé [Internet]. [cité 16 févr 2023]. Guide parcours de soins Fibrillation atriale. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/jcms/c_1741768/fr/guide-parcours-de-soins-fibrillation-atriale
51. January CT, Wann LS, Calkins H, Chen LY, Cigarroa JE, Cleveland JC, et al. 2019 AHA/ACC/HRS Focused Update of the 2014 AHA/ACC/HRS Guideline for the Management of Patients With Atrial Fibrillation: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines and the Heart Rhythm Society in Collaboration With the Society of Thoracic Surgeons. *Circulation.* 9 juill 2019;140(2):e125-51.
52. Rivera-Caravaca JM, Roldán V, Martínez-Montesinos L, Vicente V, Lip GYH, Marín F. The Atrial Fibrillation Better Care (ABC) Pathway and Clinical Outcomes in Patients with Atrial Fibrillation: the Prospective Murcia AF Project Phase II Cohort. *J Gen Intern Med.* févr 2023;38(2):315-23.
53. Hindricks G, Potpara T, Dagres N, Arbelo E, Bax JJ, Blomström-Lundqvist C, et al. 2020 ESC Guidelines for the diagnosis and management of atrial fibrillation developed in collaboration with the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS): The Task Force for the diagnosis and management of atrial fibrillation of the European Society of Cardiology (ESC) Developed with the special contribution of the European Heart Rhythm Association (EHRA) of the ESC. *Eur Heart J.* 1 févr 2021;42(5):373-498.
54. Pisters R, Lane DA, Nieuwlaet R, de Vos CB, Crijns HJGM, Lip GYH. A novel user-friendly score (HAS-BLED) to assess 1-year risk of major bleeding in patients with atrial fibrillation: the Euro Heart Survey. *Chest.* nov 2010;138(5):1093-100.
55. Lip GYH, Frison L, Halperin JL, Lane DA. Comparative validation of a novel risk score for predicting bleeding risk in anticoagulated patients with atrial fibrillation: the HAS-BLED (Hypertension, Abnormal Renal/Liver Function, Stroke, Bleeding History or Predisposition, Labile INR, Elderly, Drugs/Alcohol Concomitantly) score. *J Am Coll Cardiol.* 11 janv 2011;57(2):173-80.

56. Apostolakis S, Lane DA, Guo Y, Buller H, Lip GYH. Performance of the HEMORR2HAGES, ATRIA, and HAS-BLED Bleeding Risk–Prediction Scores in Patients With Atrial Fibrillation Undergoing Anticoagulation: The AMADEUS (Evaluating the Use of SR34006 Compared to Warfarin or Acenocoumarol in Patients With Atrial Fibrillation) Study. *J Am Coll Cardiol*. 28 août 2012;60(9):861-7.
57. Ansell J, Hirsh J, Hylek E, Jacobson A, Crowther M, Palareti G. Pharmacology and management of the vitamin K antagonists: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). *Chest*. juin 2008;133(6 Suppl):160S-198S.
58. Shikdar S, Vashisht R, Bhattacharya PT. International Normalized Ratio (INR). In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 [cité 28 mars 2023]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK507707/>
59. VIDAL [Internet]. [cité 28 mars 2023]. AVK : PREVISCAN (fluindione) désormais contreindiqué en initiation de traitement anticoagulant. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/actualites/22979-avk-previscan-fluindione-desormais-contre-indique-en-initiation-de-traitement-anticoagulant.html>
60. Favre-Bulle T. [Not Available]. *Rev Med Suisse*. 24 août 2022;18(792):1571.
61. Gandjbakhch E. Traitement anticoagulant dans la fibrillation atriale. *Bull Académie Natl Médecine*. 1 oct 2020;204(8):854-62.
62. Lei M, Wu L, Terrar DA, Huang CLH. Modernized Classification of Cardiac Antiarrhythmic Drugs. *Circulation*. 23 oct 2018;138(17):1879-96.
63. Javot L, Pape E, Yéléhé-Okouma M, Barotte E, Divoux E, Gillet P, et al. Intravenous single administration of amiodarone and breastfeeding. *Fundam Clin Pharmacol*. juin 2019;33(3):367-72.
64. Skeoch S, Weatherley N, Swift AJ, Oldroyd A, Johns C, Hayton C, et al. Drug-Induced Interstitial Lung Disease: A Systematic Review. *J Clin Med*. 15 oct 2018;7(10):356.
65. Marcus FI. Drug interactions with amiodarone. *Am Heart J*. oct 1983;106(4 Pt 2):924-30.
66. Jafari-Fesharaki M, Scheinman MM. Adverse effects of amiodarone. *Pacing Clin Electrophysiol PACE*. janv 1998;21(1 Pt 1):108-20.
67. Boriani G, Diemberger I, Biffi M, Martignani C, Branzi A. Pharmacological cardioversion of atrial fibrillation: current management and treatment options. *Drugs*. 2004;64(24):2741-62.
68. McIntyre WF, Healey JS, Bhatnagar AK, Wang P, Gordon JA, Baranchuk A, et al. Vernakalant for cardioversion of recent-onset atrial fibrillation: a systematic review and meta-analysis. *Eur Eur Pacing Arrhythm Card Electrophysiol J Work Groups Card Pacing Arrhythm Card Cell Electrophysiol Eur Soc Cardiol*. 1 août 2019;21(8):1159-66.
69. Hall AJ, Mitchell AR. Introducing Vernakalant into Clinical Practice. *Arrhythmia Electrophysiol Rev*. mars 2019;8(1):70-4.
70. Sucu M, Davutoglu V, Ozer O. Electrical cardioversion. *Ann Saudi Med*. 2009;29(3):201-6.
71. Schneider T, Martens PR, Paschen H, Kuisma M, Wolcke B, Gliner BE, et al. Multicenter, randomized, controlled trial of 150-J biphasic shocks compared with 200- to 360-J monophasic shocks in the resuscitation of out-of-hospital cardiac arrest victims. Optimized Response to Cardiac Arrest (ORCA) Investigators. *Circulation*. 10 oct 2000;102(15):1780-7.
72. Ralli M, Justesen T, Frevert SC, Schultz ANØ. Traumatic iatrogenic chylothorax after external electrical cardioversion. *Respirol Case Rep*. janv 2021;9(1):e00695.
73. Mujović N, Marinković M, Lenarczyk R, Tilz R, Potpara TS. Catheter Ablation of Atrial Fibrillation: An Overview for Clinicians. *Adv Ther*. août 2017;34(8):1897-917.

74. Five-year outcome of catheter ablation of persistent atrial fibrillation using termination of atrial fibrillation as a procedural endpoint - PubMed [Internet]. [cité 30 mars 2023]. Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25528745/>
75. Gupta A, Perera T, Ganesan A, Sullivan T, Lau DH, Roberts-Thomson KC, et al. Complications of catheter ablation of atrial fibrillation: a systematic review. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* déc 2013;6(6):1082-8.
76. Scharf C. [Fermeture de l'oreillette gauche - une alternative à l'anticoagulation permanente en cas de fibrillation auriculaire?]. *Praxis.* nov 2022;111(15):884-8.
77. Doisne N, Maupoil V, Cosnay P, Findlay I. Catecholaminergic automatic activity in the rat pulmonary vein: electrophysiological differences between cardiac muscle in the left atrium and pulmonary vein. *Am J Physiol-Heart Circ Physiol.* juill 2009;297(1):H102-8.
78. Maupoil V, Bronquard C, Freslon JL, Cosnay P, Findlay I. Ectopic activity in the rat pulmonary vein can arise from simultaneous activation of α 1- and β 1-adrenoceptors. *Br J Pharmacol.* avr 2007;150(7):899-905.
79. Bredeloux P, Findlay I, Pasqualin C, Hocini M, Bernus O, Maupoil V. Selective inhibition of electrical conduction within the pulmonary veins by α 1-adrenergic receptors activation in the Rat. *Sci Rep.* 25 mars 2020;10(1):5390.
80. Taylor BN, Cassagnol M. Alpha Adrenergic Receptors. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 [cité 30 mars 2023]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539830/>
81. mécanismes membranaires à l'origine du potentiel de repos [Internet]. [cité 30 mars 2023]. Disponible sur: <http://neurobranches.chez-alice.fr/neurophy/mecamemb.html>
82. Cho H, Nam GB, Lee SH, Earm YE, Ho WK. Phosphatidylinositol 4,5-Bisphosphate Is Acting as a Signal Molecule in α 1-Adrenergic Pathway via the Modulation of Acetylcholine-activated K⁺ Channels in Mouse Atrial Myocytes *. *J Biol Chem.* 5 janv 2001;276(1):159-64.
83. Unudurthi SD, Wu X, Qian L, Amari F, Onal B, Li N, et al. Two-Pore K⁺ Channel TREK-1 Regulates Sinoatrial Node Membrane Excitability. *J Am Heart Assoc.* 5(4):e002865.
84. Mathie A. Neuronal two-pore-domain potassium channels and their regulation by G protein-coupled receptors. *J Physiol.* 15 janv 2007;578(Pt 2):377-85.
85. Giles W, Noble SJ. Changes in membrane currents in bullfrog atrium produced by acetylcholine. *J Physiol.* sept 1976;261(1):103-23.
86. Brown HF, Giles W, Noble SJ. Membrane currents underlying activity in frog sinus venosus. *J Physiol.* 1977;271(3):783-816.
87. Mayordomo-Cava J, Yajeya J, Navarro-López JD, Jiménez-Díaz L. Amyloid- β (25-35) Modulates the Expression of GIRK and KCNQ Channel Genes in the Hippocampus. *PloS One.* 2015;10(7):e0134385.
88. Corey S, Krapivinsky G, Krapivinsky L, Clapham DE. Number and stoichiometry of subunits in the native atrial G-protein-gated K⁺ channel, IKACH. *J Biol Chem.* 27 févr 1998;273(9):5271-8.
89. Kennedy ME, Nemec J, Corey S, Wickman K, Clapham DE. GIRK4 confers appropriate processing and cell surface localization to G-protein-gated potassium channels. *J Biol Chem.* 22 janv 1999;274(4):2571-82.
90. Yamada M, Inanobe A, Kurachi Y. G protein regulation of potassium ion channels. *Pharmacol Rev.* déc 1998;50(4):723-60.
91. Tateyama M, Kubo Y. Gi/o-coupled muscarinic receptors co-localize with GIRK channel for efficient channel activation. *PloS One.* 2018;13(9):e0204447.
92. Wickman KD, Clapham DE. G-protein regulation of ion channels. *Curr Opin Neurobiol.* juin 1995;5(3):278-85.

93. Gauldie J, Hanson JM, Rumjanek FD, Shipolini RA, Vernon CA. The Peptide Components of Bee Venom. *Eur J Biochem.* 1976;61(2):369-76.
94. Xu X, Nelson JW. Solution structure of tertiapin determined using nuclear magnetic resonance and distance geometry. *Proteins Struct Funct Bioinforma.* 1993;17(2):124-37.
95. Jin W, Klem AM, Lewis JH, Lu Z. Mechanisms of inward-rectifier K⁺ channel inhibition by tertiapin-Q. *Biochemistry.* 26 oct 1999;38(43):14294-301.
96. Jin W, Lu Z. Synthesis of a stable form of tertiapin: a high-affinity inhibitor for inward-rectifier K⁺ channels. *Biochemistry.* 26 oct 1999;38(43):14286-93.
97. Kanjhan R, Coulson EJ, Adams DJ, Bellingham MC. Tertiapin-Q Blocks Recombinant and Native Large Conductance K⁺ Channels in a Use-Dependent Manner. *J Pharmacol Exp Ther.* sept 2005;314(3):1353-61.
98. Girard C, Lesage F. Canaux K2P neuronaux : aspects moléculaires et fonctionnels. *médecine/sciences.* 1 mai 2004;20(5):544-9.
99. Lesage F, Reyes R, Fink M, Duprat F, Guillemare E, Lazdunski M. Dimerization of TWIK-1 K⁺ channel subunits via a disulfide bridge. *EMBO J.* 2 déc 1996;15(23):6400-7.
100. Heurteaux C, Blondeau N. Le rôle majeur du canal potassique TREK-1 dans la protection neuronale induite par les oméga-3. *Ol Corps Gras Lipides.* 1 janv 2005;12(1):68-77.
101. Patel AJ, Honoré E. Properties and modulation of mammalian 2P domain K⁺ channels. *Trends Neurosci.* juin 2001;24(6):339-46.
102. Maingret F, Lauritzen I, Patel AJ, Heurteaux C, Reyes R, Lesage F, et al. TREK-1 is a heat-activated background K⁺ channel. *EMBO J.* 1 juin 2000;19(11):2483-91.
103. Lesage F, Terrenoire C, Romey G, Lazdunski M. Human TREK2, a 2P domain mechano-sensitive K⁺ channel with multiple regulations by polyunsaturated fatty acids, lysophospholipids, and Gs, Gi, and Gq protein-coupled receptors. *J Biol Chem.* 15 sept 2000;275(37):28398-405.
104. Lolicato M, Arrigoni C, Mori T, Sekioka Y, Bryant C, Clark KA, et al. K2P2.1 (TREK-1)-activator complexes reveal a cryptic selectivity filter binding site. *Nature.* 20 juill 2017;547(7663):364-8.
105. Lolicato M, Arrigoni C, Mori T, Sekioka Y, Bryant C, Clark KA, et al. K2P2.1(TREK-1):activator complexes reveal a cryptic selectivity filter binding site. *Nature.* 20 juill 2017;547(7663):364-8.
106. ML335 [Internet]. [cité 9 janv 2024]. Disponible sur: <https://www.glpbio.com/fr/ml335.html>
107. Hamill OP, Marty A, Neher E, Sakmann B, Sigworth FJ. Improved patch-clamp techniques for high-resolution current recording from cells and cell-free membrane patches. *Pflüg Arch.* 1 août 1981;391(2):85-100.
108. Dobrev D, Friedrich A, Voigt N, Jost N, Wettwer E, Christ T, et al. The G protein-gated potassium current I(K,ACh) is constitutively active in patients with chronic atrial fibrillation. *Circulation.* 13 déc 2005;112(24):3697-706.
109. van den Berg G, Moorman AFM. Development of the Pulmonary Vein and the Systemic Venous Sinus: An Interactive 3D Overview. *PLoS ONE* [Internet]. 11 juill 2011 [cité 12 mai 2021];6(7). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3133620/>
110. Voigt N, Abu-Taha I, Heijman J, Dobrev D. Constitutive activity of the acetylcholine-activated potassium current I(K,ACh) in cardiomyocytes. *Adv Pharmacol San Diego Calif.* 2014;70:393-409.
111. Cells | Free Full-Text | Two-Pore-Domain Potassium (K2P-) Channels: Cardiac Expression Patterns and Disease-Specific Remodelling Processes [Internet]. [cité 11 nov 2023]. Disponible sur: <https://www.mdpi.com/2073-4409/10/11/2914>

112. Christin M. Étude du rôle des canaux potassiques de fond TREK dans la douleur et l'analgésie par la morphine [Internet] [phdthesis]. Université Nice Sophia Antipolis; 2014 [cité 11 nov 2023]. Disponible sur: <https://theses.hal.science/tel-01135445>
113. Unudurthi S, Wu X, Qian L, Amari F, Onal B, Li N, et al. Two-Pore K + Channel TREK-1 Regulates Sinoatrial Node Membrane Excitability. *J Am Heart Assoc*. 1 avr 2016;5:e002865.

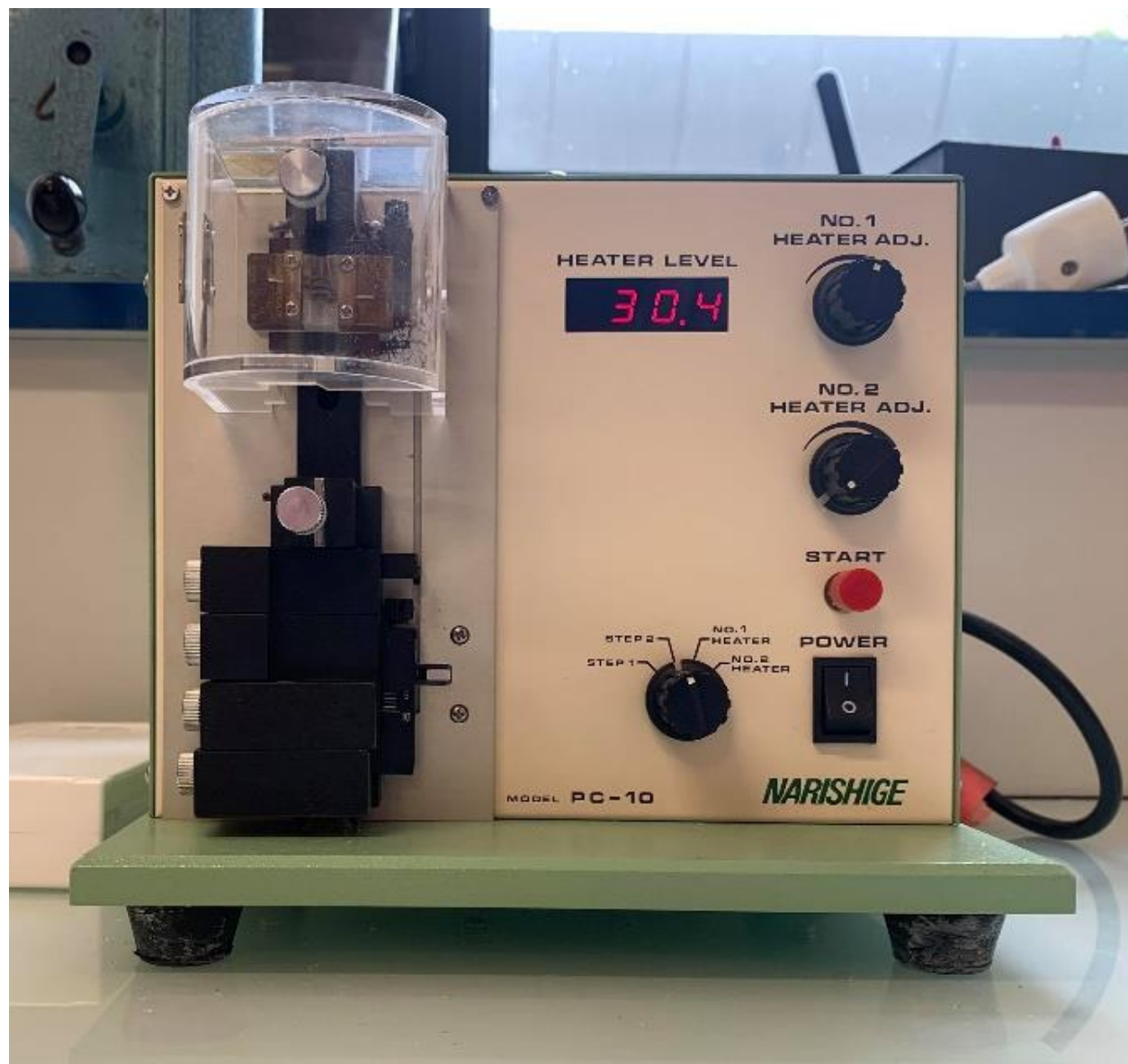
Annexes

Annexe I : Tableau de classification des antiarythmiques de Vaughan Williams. Source : Strong Medicine – E. Strong

Antiarrhythmic Medications							
		General Mechanism	Effect on Action Potential	Examples	Additional "Extraclass" Actions	Major or Unique Side Effects / Toxicity	Common Antiarrhythmic Indications
I	Ia	Na ⁺ channel blocker	↓↓ upstroke rate ↑ AP duration	Quinidine Procainamide	Class III activity	• Prolonged QT • Quinidine: Cinchonism • Procainamide: Drug-induced lupus	• Quinidine: Brugada synd. • Procainamide: AVRT and preexcited a-fib & a-flutter
	Ib		↓ upstroke rate ↓ AP duration	Lidocaine (<i>IV only</i>) Mexiletine	None	Various CNS effects (predom. lidocaine)	Suppression of VT (typically in acute ischemia)
	Ic		↓↓↓ upstroke rate ∅ AP duration	Propafenone Flecainide	Class II activity (<i>propafenone only</i>)	Increased risk of death when used in patients post-MI.	Maint. of sinus rhythm in paroxysmal a-fib (PAF), (but only if no CAD/HF)
II		β blocker	Slows rate of depolarization in slow AP cells	Metoprolol Esmolol (<i>IV only</i>) Acebutolol Pindolol	None (among these β blockers)	• Bronchospasm • Depression • Exercise intolerance • Sexual dysfunction	• Rate control of a-fib/flutter • Suppression of PVCs, PACs, and VT
III		K ⁺ channel blocker	↑↑↑ AP duration	Amiodarone	Class I, II, and IV activity	• Pulmonary fibrosis • Thyroid disease • Hepatic dysfunction, ↑ LFTs	• Cardioversion of a-fib/flutter • Maintenance of sinus rhythm in PAF • Suppression of VT
				Dronedarone	Class I, II, and IV activity	• Prolonged QT • Contraindicated in permanent a-fib, and decompensated heart failure	Maintenance of sinus rhythm in PAF
				Sotalol	Class II activity	Prolonged QT	• Maintenance of sinus rhythm in PAF • Suppression of VT
				Dofetilide	None	Prolonged QT	• Cardioversion of a-fib/flutter • Maintenance of sinus rhythm in PAF
IV		Ca ²⁺ channel blocker	Slows rate of depolarization in slow AP cells	Verapamil Diltiazem	Vasodilation	Negative inotropy	• Rate control of a-fib/flutter • Prevention of AVNRT
Digoxin		↑ vagal tone, Inhibits Na ⁺ /K ⁺ pump	Slows rate of depolarization in slow AP cells	N/A	Strengthens myocardial contraction	Very proarrhythmic	Rate control of a-fib (<i>2nd line</i>)
Adenosine		Induces AV block	↑ refractory period ↑ threshold potential ↓ upstroke rate	N/A	Vasodilation	"Dying-like" sensation	• Termination of AVNRT, AVRT • "Uncovering" a-flutter, AT

Copyright © Strong Medicine - Dr. Eric Strong

Annexe II : Etireuse à pipettes en verre



ENGAGEMENT DE NON-PLAGIAT

Je, soussigné (e) Clément Etienne BION

Déclare être pleinement conscient(e) que le plagiat de documents ou d'une partie d'un document publiés constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée. (*Décret n°92-657 du 13 juillet 1992*)

En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées pour écrire ce mémoire.

Signature :



SIGNATURES DU DIRECTEUR DE THESE ET DU DOYEN

N° Étudiant : 21403575

N° Thèse : 3

Nom et Prénom : BION Clément

Sujet : Fibrillation auriculaire : Vers un isolement des veines pulmonaires de
l'oreillette gauche par une approche pharmacologique

Tours, le : 2/02/2024

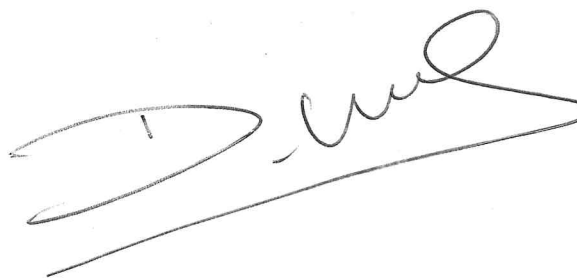
Le(s) Directeur(s) de Thèse :




Vu et Transmis :
Le Doyen

Le directeur de la Faculté
des Sciences Pharmaceutiques

Pr Denys BRAND



NOM, PRÉNOM de l'étudiant : Clément Etienne BION

N° 3

TITRE DE LA THÈSE

Fibrillation auriculaire : Vers un isolement des veines pulmonaires de l'oreillette gauche par une approche pharmacologique.

RÉSUMÉ DE LA THÈSE

Chez le rat, l'activation des récepteurs α_1 adrénergiques provoque la dépolarisation des cardiomyocytes (CM) des veines pulmonaires (VP) et permet leur isolement électrique vis-à-vis de ceux l'oreillette gauche (OG). Ces résultats permettent d'espérer la développement de futurs traitements de la fibrillation auriculaire (FA) ciblant directement le myocarde et les VP. Cependant, il est nécessaire de découvrir les mécanismes à l'origine de cet effet, l'utilisation d'agoniste des récepteurs α_1 adrénergiques entrainerait trop d'effets indésirables et n'est donc pas utilisable en thérapeutique. L'objectif de ce travail est d'explorer l'implication de deux courants potassiques : TREK 1 et I_{KACH} dans les CM de VP et d'OG afin de savoir s'ils sont responsables de l'effet dépolarisant observé par l'activation des récepteurs α_1 -adrénergiques dans les CM de VP. En effet, ces courants pourraient constituer des cibles pharmacologiques plus intéressantes pour développer des traitements plus efficaces de la FA.

MOTS-CLÉS SIGNIFICATIFS DE SON CONTENU, ATTIBUÉS PAR LE CANDIDAT EN LIAISON AVEC LA BIBLIOTHÈQUE UNIVERSITAIRE ET LES MEMBRES DU JURY

Mots clés : Fibrillation auriculaire, traitement, cardiomyocytes, veines pulmonaires, oreillette gauche, TREK 1, I_{KACH} , α_1 -adrénergique, cirazoline, ML 335, tertiapin Q

JURY

Pierre BREDELOUX – Docteur en pharmacie & Maitre de conférences à l'université François Rabelais - TOURS
Côme PASQUALIN - Docteur en pharmacie & Maitre de conférences à l'université François Rabelais - TOURS
Jordan CHALLIER – Docteur en pharmacie - PARIS
Madeline CHENOFFE – Docteur en pharmacie – NEUILLE-PONT-PIERRE

DATE ET LIEU DE SOUTENANCE : Université de Tours, Faculté de pharmacie le 17 janvier 2024