



Universiteit  
Leiden  
The Netherlands

## Mapping the maze: advancing atrial fibrillation models and therapies

Harlaar, N.

### Citation

Harlaar, N. (2026, January 29). *Mapping the maze: advancing atrial fibrillation models and therapies*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/4288215>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/4288215>

**Note:** To cite this publication please use the final published version (if applicable).





# Appendices

# Nederlandse Samenvatting

**Hoofdstuk 1** beschreef de achtergrond van dit proefschrift. Atriumfibrilleren (AF), de meest voorkomende hartritmestoornis, is een belangrijke veroorzaker van morbiditeit, mortaliteit en zorgkosten in de westerse wereld. Naarschatting zal 1 op de 3 Europeanen in de loop van hun leven AF ontwikkelen, wat het tot een belangrijk onderzoeksgebied maakt. De aanwezigheid van AF wordt gekenmerkt door snelle en chaotische elektrische activatie van de atria en is het resultaat van een complexe interactie tussen triggers, onderhoudende factoren en een atriaal substraat. De pathofysiologie achter het ontstaan van AF blijft een intensief bestudeerd onderwerp, waarbij het inzicht in de multiforme mechanismen die leiden tot initiatie, instandhouding en beëindiging onvolledig blijft. De huidige behandelstrategie bij patiënten met AF omvat een combinatie van het reduceren van het risico op een beroerte, frequentiecontrole, symptoombehandeling en optimalisatie van comorbiditeiten. Dit omvat tevens strategieën voor ritmecontrole, zoals anti-aritmische medicamenteuze therapie of ablatie. Helaas zijn deze behandelstrategieën niet bij alle patiënten effectief, en een deel van de patiënten blijft symptomatisch en/of ontwikkelt persisterend of langdurig persisterend AF, waarbij het herstel van sinusritme uitdagender wordt.

**Deel één** van dit proefschrift richtte zich op ritmecontrole door middel van thoracoscopische ablatie bij symptomatisch langdurig persisterend AF. Deze strategie is bijzonder uitdagend gezien de aanwezigheid van een uitgebreid aritmogeen substraat bij deze patiënten. De ablatie van dit substraat vereist de elektrische isolatie van additionele atriale structuren naast de longvenen, met name de posterieure wand van het linker atrium en het linker hartoor. Het bereiken van duurzame isolatie van deze structuren met uitsluitend endocardiale ablatie kan moeilijk zijn. Chirurgische epicardiale ablatie via een mediane sternotomie is effectiever, maar ook zeer invasief. Thoracoscopische epicardiale ablatie heeft in de afgelopen twee decennia aan populariteit gewonnen doordat het de voordelen van beide benaderingen tracht te combineren. Echter, in de literatuur zijn slechts beperkte gegevens beschikbaar over (lange termijn) effectiviteit.

In **hoofdstuk 2** onderzochten wij in welke mate de gebruikte thoracoscopische ablatietechniek de uitkomsten beïnvloedt, door de effectiviteit van twee gangbare thoracoscopische ablatietools voor elektrische isolatie van het posterieure linker atrium te vergelijken. Deze twee epicardiale systemen, een unidirectioneel niet-clampend device en een bidirectioneel clampend device,

worden gebruikt voor het creëren van de dak- en bodemlaesies van de zogenoemde "box" tussen de longvenen. Wij vonden dat acute intraoperatieve elektrische isolatie van het box-compartiment significant vaker werd bereikt in de clamp-groep dan in de niet-clamp-groep. Na één jaar follow-up waren respectievelijk 91% van de patiënten in de clamp-groep en 79% in de niet-clamp-groep in sinusritme (geen statistisch significant verschil), terwijl herhaalde katheterinterventies nodig waren bij respectievelijk 10% en 21% van de patiënten (eveneens geen statistisch significant verschil). Al met al concludeerden wij dat thoroscopische ablatie effectief is in het herstellen van sinusritme bij langdurig persisterend AF, en dat clampende en niet-clampende devices op korte termijn geen significant verschillende uitkomsten geven. Meer onderzoek is nodig om te beoordelen of deze resultaten op de lange termijn vergelijkbaar zijn.

In **hoofdstuk 3** onderzochten wij de langetermijnuitkomsten van thoroscopische ablatie met de clamp-techniek bij symptomatisch langdurig persisterend AF, aangezien deze behandeling snel aan populariteit wint, terwijl langetermijngegevens schaars blijven. Wij vonden dat de aritmie-vrije overleving na 5 jaar 50% bedroeg na een enkele thoroscopische procedure en 68% wanneer aanvullende endocardiale "touch-up"-procedures werden toegestaan (uitgevoerd bij 1 op de 5 patiënten). In deze studie had ongeveer de helft van de patiënten continue ritmemonitoring door middel van een implanteerbare loop-recorder of pacemaker, wat een gedetailleerde beoordeling van recidieven mogelijk maakte. Bij deze patiënten daalde de gemiddelde AF-belasting van 100% preoperatief tot 0,1% aan het einde van de blankingperiode en 8% gedurende het tweede jaar. Het gebruik van anti-aritmische medicatie nam significant af van 49% preoperatief tot 14% vijf jaar na ablatie. Wij concludeerden dat thoroscopische longvenen- en box-isolatie effectief is in het langdurig herstellen van sinusritme bij langdurig persisterend AF, in het bijzonder wanneer dit wordt aangevuld met endocardiale touch-up-procedures.

**Deel twee** van dit proefschrift richtte zich op het verbeteren van de beschikbaarheid van goed gedifferentieerde humane atriale cardiomyocyten met als doel het ontwikkelen van een klinisch relevant *in vitro* model van AF. Traditioneel zijn met name diermodellen gebruikt om mechanistisch inzicht in AF te verkrijgen en nieuwe therapieën te ontwikkelen. Deze modellen variëren van fruitvliegen en zebrafissen tot knaagdieren en grotere zoogdieren, waarbij de laatste de grootste (zij het nog steeds beperkte) gelijkenis vertonen met de humane (patho)fysiologie. Hoewel de algemene consensus is dat deze

diermodellen (ten minste op de korte termijn) een belangrijke rol in preklinisch onderzoek zullen behouden, bestaat er behoefte aan klinisch relevantere en gestandaardiseerde humane *in vitro* modellen van AF. De verschillen in (patho)fysiologie tussen mens en dier, gecombineerd met toenemende maatschappelijke weerstand tegen dierproeven, hebben geleid tot een verschuiving richting ziektemodellen gebaseerd op humane cellen. Huidige bronnen van goed gedifferentieerde humane atriale myocyten (AM's) voor dergelijke modellen zijn echter beperkt. De slechte beschikbaarheid van humaan atriumweefsel, in combinatie met de neiging van volwassen humane cardiomyocyten om in kweek te dedifferentiëren, maakt primaire humane AM's ongunstig om mee te werken. Ontwikkelingen in differentiatieprotocollen van humane pluripotente stamcellen (hPSC) hebben een alternatief geboden voor humane AM's voor *in vitro* modellering. Ondanks hun aantrekkelijke eigenschappen en unieke toepassingen gaan huidige hPSC-afgeleide AM's (hPSC-AM's) echter gepaard met arbeidsintensieve werkprocessen, hoge fenotypische variatie en algehele onvolwassenheid.

In **hoofdstuk 4** karakteriseerden wij de elektrofysiologische eigenschappen van geëxcideerd humaan atriumweefsel en onderzochten of dit weefsel gebruikt kon worden om kweekbare hartweefselplakjes te creëren die geschikt zijn voor *ex vivo* elektrofysiologische studies. Wij vonden dat meer dan 90% van het atriumweefsel in ongesneden vorm exciteerbaar was, hoewel het gebied van excitatie varieerde. In de exciteerbare hartoren bedroeg de gemiddelde geleidingssnelheid  $40 \pm 14$  cm/s en de gemiddelde actiepotentiaalduur  $320 \pm 106$  ms bij 80% repolarisatie. Het vervaardigen van atriumweefselplakjes verliep technisch probleemloos in de meerderheid van de gevallen, maar slechts 12% van de pogingen leverde duidelijk exciteerbare atriumweefselplakjes op bij optical voltage mapping. Het kweken van deze exciteerbare weefselplakjes met de liquid-air interface methode was niet succesvol. Al met al vonden wij een hoge mate van variabiliteit in de exciteerbaarheid van de verkregen hartoren en atriumweefselplakjes in deze studie. Verdere onderzoeken zijn noodzakelijk om de betrouwbaarheid van dit veelbelovende preklinische onderzoeksinstrument te verbeteren.

In **hoofdstuk 5** beschreven wij een methode voor conditionele celimmortalisatie, die wij toepasten om een nieuwe robuuste en schaalbare bron van humane AM's voor *in vitro* onderzoek te creëren. Door conditionele immortaliseringsmethoden gebaseerd op doxycycline-gereguleerde expressie van de vroege genproducten van het simian virus 40, konden humane foetale AM's minimaal tot de orde van een quadrijloenvoud worden uitgebreid en

vervolgens in een strak controleerbare manier her-differentiëren tot volledig functionele AM's. De moleculaire, cellulaire en elektrofysiologische eigenschappen van deze cellen, die hiAM's (human immortalized atrial myocytes) werden genoemd, vertoonden een sterke overeenkomst met die van primaire AM's. Opmerkelijk was dat deze hiAM's een grotere transcriptomische maturiteit en een meer volwassen elektrofysiologisch fenotype vertoonden dan hPSC-AM's. Met behulp van hiAM's konden wij confluerende cellagen van 10 cm<sup>2</sup> genereren met activatiefrequenties van 7–8 Hz na inductie van fibrillatoire activiteit, wat overeenkomt met de klinische manifestatie van AF en wat voorheen niet mogelijk was met hPSC-AM's. Bovendien kon hun aritmische activiteit worden beëindigd door toediening van anti-aritmische medicatie die gangbaar is in de klinische praktijk. Al met al biedt de ontwikkeling van de hiAM-lijnen een proof-of-concept van een veelzijdige methode om op eenvoudige en snelle wijze enorme aantallen authentieke humane cellen te produceren voor uitgebreid ziektemodellering.

