

Université de Montréal

**Le rôle du système rénine-angiotensine et de la différence
liée au sexe dans la fibrillation auriculaire chez la souris**

par Anh-Tuan Ton

Faculté de Pharmacie

Thèse présentée à la Faculté des études supérieures et postdoctorales
en vue de l'obtention du grade de Philosophiae Doctor (PhD)
en Sciences pharmaceutiques
option Pharmacologie

Août 2018

© Anh-Tuan Ton, 2018

Résumé

La fibrillation auriculaire (FA) est l'arythmie cardiaque soutenue la plus fréquente mondialement. En effet, elle touche 1 à 2 % de la population générale et augmente jusqu'à 10% chez les personnes âgées de plus de 80 ans. En plus d'être une importante source de complications cardiovasculaires, de morbidité et de mortalité, elle représente plus de 33 % des hospitalisations liées à des troubles cardiovasculaires. Plusieurs facteurs de risque peuvent entraîner la FA, tels que le sexe masculin et l'âge, mais également des conditions cliniques comme l'insuffisance cardiaque, l'hypertension, le diabète et l'exercice physique d'endurance.

De ce fait, cette thèse porte sur l'association entre le système rénine angiotensine, le sexe masculin et la prévalence à la fibrillation auriculaire. Des expériences au niveau cellulaire et moléculaire ont été effectuées dans le but d'étudier le remodelage électrophysiologique et structurel impliqué dans le développement de la fibrillation auriculaire.

Les résultats démontrent qu'une surexpression spécifique au niveau cardiaque des récepteur de type 1 de l'angiotensine II cause une diminution de l'expression des courants Na^+ et des connexines 40 perturbant ainsi la conduction auriculaire. Parallèlement, les souris mâles sont deux fois plus susceptibles aux événements de fibrillation auriculaire que les femelles et cette prévalence est associée à une plus faible expression de connexines 40. Par contre, suite à la castration, le nombre d'événements de fibrillation ainsi que l'expression génique de connexines 40 atteignent des niveaux similaires à ceux retrouvés chez les souris femelles, confirmant la contribution des androgènes dans la genèse de la FA.

En somme, cette baisse de vitesse de conduction, causée par une diminution de connexines 40, entraîne une augmentation du risque de fibrillation auriculaire via l'apparition de foyers d'activités ectopiques et de phénomènes de réentrées. De plus, nous avons démontré que les androgènes jouent un rôle majeur dans la diminution de l'expression des connexines 40 et qu'elle est associée à la plus haute prévalence de fibrillation auriculaire observée chez les hommes. Nos résultats tendent à prouver que l'on pourrait développer des thérapies spécifiques au sexe ou à certains mécanismes impliqués dans le déclenchement de la fibrillation auriculaire.

Mots-clés : fibrillation auriculaire, électrophysiologie, angiotensine II, androgène, connexine

Abstract

Atrial fibrillation is the most common sustained cardiac arrhythmia. Indeed, atrial fibrillation affects 1 to 2 % of the general population and up to 10 % of the population older than 80 years old. Besides being an important source of cardiovascular complications, morbidity and mortality, atrial fibrillation represents more than one third of all hospitalisations related to cardiovascular diseases. Many risk factors can lead to atrial fibrillation occurrence, such as male sex and age, but also clinical disorders such as heart failure, hypertension, diabetes, and endurance training

Therefore, the goal of this thesis is to study the association between the renin-angiotensin system, male sex and the prevalence of atrial fibrillation. Experiences at the cellular (electrophysiology) and molecular level will be done to evaluate the role of electrophysiological and structural remodeling in the development of atrial fibrillation.

Briefly, the results show that a cardiac specific overexpression of angiotensin II type 1 receptors causes a decrease in the expression of Na^+ currents and connexin 40 leading to the disruption of atrial conduction. Of note, male mice were two times as susceptible to atrial fibrillation events than female and this prevalence is associated with a lower expression of connexin 40. However, following orchietomy, the number of atrial fibrillation events and the expression level of connexin 40 gene reached similar values as those found in the female mice.

In summary, this reduction in conduction velocity caused by a reduction of connexin 40 and Na^+ currents can lead to an increased risk of atrial fibrillation due to the occurrence of focal ectopic activity and re-entry phenomenon. Furthermore, we showed that androgen seems to be responsible for the decreased connexin 40 expression associated with the higher prevalence of atrial fibrillation observed in men. Thus, these results might allow the development of specific therapies based on sex or specific to certain forms of atrial fibrillation.

Keywords : atrial fibrillation, electrophysiology, angiotensin II, androgens, connexins

Table des matières

Résumé	i
Abstract	ii
Table des matières.....	iii
Liste des tableaux.....	v
Liste des figures.....	vi
Liste des abréviations.....	viii
Remerciements	xii
Chapitre 1. Introduction	13
1.1 – Épidémiologie de la fibrillation auriculaire.....	13
1.2 – L'électrophysiologie cardiaque humaine et murine	15
1.2.1 – Potentiel d'action auriculaire.....	16
1.2.2 – Période réfractaire cardiaque.....	19
1.2.3 – Connexines cardiaques.....	20
1.3 – Le remodelage auriculaire.....	23
1.3.1 – Le remodelage électrophysiologique.....	25
1.3.2 – Le remodelage structurel.....	31
1.3.3 – Le remodelage contractile.....	34
1.3.4 – Le remodelage neuronal.....	37
1.4 – Le système rénine-angiotensine et la fibrillation auriculaire.....	42
1.5 – Différences mâles/femelles.....	45
1.5.1 – Arythmies cardiaques.....	45
1.5.2 – Influence des hormones sexuelles sur l'électrophysiologie.....	48
1.6 – Contextualisation.....	51
1.7 – Hypothèse de travail	52
1.8 – Objectifs de la thèse.....	52
Chapitre 2 – Matériels et méthodes	54
Chapitre 3 – Résultats	55

Article 1 : Lien entre le système rénine angiotensine et la fibrillation auriculaire.....	55
Article 2 : Influence du sexe dans la prévalence à la fibrillation auriculaire	98
Chapitre 4 – Discussion.....	129
4.1 – Principales découvertes	129
4.2 – AT1R et la fibrillation auriculaire.....	130
4.3 – Différences mâle-femelle dans la fibrillation auriculaire	135
4.4 – Similitude et lien entre les deux études	140
4.5 – Implications potentielles.....	141
4.6 – L’âge : facteur de risque dans la fibrillation auriculaire.....	144
4.7 – L’exercice physique d’endurance et la fibrillation auriculaire	145
4.8 – Le rôle des hormones sexuelles dans le système cardiovasculaire	147
4.9 – Limitations et directions futures.....	150
Chapitre 5 – Conclusion.....	152
Bibliographie	i
Sex differences in cardiac electrophysiology and clinical arrhythmias: Epidemiology, therapeutics and mechanisms	i

Liste des tableaux

Tableau 1. Liste des canaux et des courants impliqués dans le potentiel d'action auriculaire chez la souris et l'humain.....	18
--	----

Liste des figures

Figure 1. Représentation de l'influx électrique cardiaque en rythme sinusal normal et lors de fibrillation auriculaire.....	13
Figure 2. Les facteurs de risque les plus connus de la fibrillation auriculaire.	15
Figure 3. Représentations des ECG typiques chez l'humain et la souris.....	16
Figure 4. Les différents courants ioniques impliqués dans le potentiel d'action auriculaire humain (A) et murin (B).....	18
Figure 5. Représentation des différentes phases impliquées durant un potentiel d'action ainsi que les périodes réfractaires	20
Figure 6. Représentation des <i>jonctions gap</i> entre deux cardiomyocytes adjacents.	21
Figure 7. Localisation des différentes formes de Cx exprimées dans le cœur.	22
Figure 8. Les principaux mécanismes impliqués dans le développement de la FA.	24
Figure 9. Représentation des potentiels d'action en rythme sinusal normal (RSN) et lors de la fibrillation auriculaire (FA).	28
Figure 10. Expression et disposition des connexines dans un cœur sain et atteint de fibrillation auriculaire.....	30
Figure 11. Interaction entre les fibroblastes et les cardiomyocytes.....	33
Figure 12. Représentation du système de l'homéostasie calcique.....	35
Figure 13. Rôle des récepteurs adrénergiques α et β et muscariniques sur la synthèse des protéines kinases impliquées dans la régulation cardiaque.....	38
Figure 14. Implication des récepteurs cholinergiques et α - et β -adrénergiques dans le cardiomyocyte.....	40
Figure 15. Inter-relation des quatre formes de remodelage (électrophysiologique, structurel, contractile et neuronal) retrouvées chez les patients atteints de FA.	41
Figure 16. Effets de l'angiotensine II et de l'activation de son récepteur de type 1 sur le système cardiaque.	42
Figure 17. Les deux voies de signalisation des récepteurs de type 1 de l'angiotensine II (AT1R) au niveau cardiaque.....	44
Figure 18. Prévalence de la FA chez les hommes et les femmes.	47
Figure 19. Taux de survie entre les hommes et les femmes atteints de FA aux différents âges	48

Figure 20. Niveau d'androgènes (testostérones et dihydrotestostérones) plasmatiques entre les souris mâles et femelles dans les lignées de souris utilisées dans cette thèse	49
Figure 21. Comparaison de l'expression d'ARNm de RGS2 dans les oreillettes et les ventricules de souris contrôles (CTL) versus AT1R de 50 jours et 6 mois.	134
Figure 22. Effet de l'âge sur l'incidence à la fibrillation auriculaire chez les souris CD-1....	145
Figure 23. Niveaux d'androgènes dans les différentes lignées de souris et la susceptibilité à la FA dans nos modèles de souris.....	149

Liste des abréviations

AC	Adénylate cyclase
AMPC	Adénosine monophosphate cyclique
Ang II	Angiotensine II
ASO	Apnée du sommeil obstructive
ATP	Adénosine triphosphate
AT1R	Récepteur de type 1 de l'angiotensine II
AVC	Accident vasculo-cérébral
CaMKII	Protéine kinase II dépendante du Ca^{2+} /calmoduline
Casq2	Calséquestrine
CTGF	«Connective-tissue growth factor»
Cx	Connexine
EAD	Post-dépolarisation précoce
ECG	Électrocardiogramme
ER	Récepteur d'œstrogènes
DAD	Post-dépolarisation retardée
FA	Fibrillation auriculaire
I_{CaL}	Courant Ca^{2+} de type-L
I_{Na}	Courant Na^{+}
I_{NaL}	Courant Na^{+} soutenu
I_{K1}	Courant K^{+} à rectification entrante
I_{KACh}	Courant K^{+} à rectification entrante modulé par l'acétylcholine
I_{KATP}	Courant K^{+} à rectification entrante modulé par l'ATP
I_{Kr}	Courant K^{+} à rectification rapide
I_{Ks}	Courant K^{+} à rectification lente
I_{Kur}	Courant K^{+} à rectification ultra-rapide
I_{to}	Courant K^{+} transitoire sortant indépendant du Ca^{2+}
IECA	Inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine
MAPK	«Mitogen-activated protein kinase»
NAV	Nœud auriculo-ventriculaire

NCX	Échangeur Na ⁺ /Ca ²⁺
NFAT	«Nuclear factor of activated T cells»
NSA	Nœud sinusal
ORC	Orchiectomie
PDGF	«Platelet-derived growth factor»
PKA	Protéine kinase A
PKC	Protéine kinase C
PLB	Phospholamban
PRA	Période réfractaire absolue
PRE	Période réfractaire effective
PRR	Période réfractaire relative
RGS	«Regulator of G-protein signaling»
RS	Réticulum sarcoplasmique
RyR2	Récepteur à la ryanodine
SBr	Syndrome de Brugada
SERCA2a	Pompe Ca ²⁺ -ATPase située sur le réticulum sarcoplasmique
SLQT	Syndrome du long QT
SNA	Système nerveux autonome
SRA	Système rénine-angiotensine
TGF-β1	«Transforming growth factor- β1»
TRNAV	Tachycardie par réentrée nodale auriculo-ventriculaire
DHT	Dihydrotestostérone
4-OH-tamoxifène	4-hydroxy-tamoxifène

*If someone is better than you at something,
it's likely because they have failed at it more often than you
-Mark Manson*

*Je dédie cette thèse à tous ceux qui m'ont supporté
durant toutes ces années d'étude.*

Remerciements

Avoir un diplôme doctoral signifie être un expert dans un domaine spécifique, posséder les connaissances nécessaires pour réussir et être capable d'utiliser les outils scientifiques pour s'adapter. Toutes ces aptitudes, je ne les ai pas acquises par moi-même; j'ai eu une mentore qui a su être généreuse, patiente et dévouée. Elle sait où sont nos forces et faiblesses et en tant que professeure, elle est capable de nous montrer à gérer nos faiblesses et nous rendre meilleur. En effet, sans la chance et les conseils offerts par ma directrice de thèse, Dre Céline Fiset, je ne serai pas le scientifique dont je suis aujourd'hui et je n'aurai certainement pas eu ma carrière actuelle.

Vers le quart de ma formation, j'ai eu l'honneur de rencontrer Dre Anique Ducharme qui deviendra ma codirectrice de thèse. Bien qu'elle ait un horaire chargé, elle a toujours été disponible pour répondre à mes questions et de m'aider à m'enligner vers la bonne solution.

Lorsque j'ai joint le laboratoire du Dre Fiset, elle avait déjà un noyau de personnes scientifiquement incroyable. Durant mes 6 années, j'ai développé d'importants liens d'amitié avec eux. Nathalie Éthier est sans l'ombre d'un doute la personne ressource du laboratoire. Malgré la perte de son odorat, elle n'a pas perdu son sens de l'humour. Dre Sophie Mathieu avec son calme hors de ce monde m'a montré à gérer plusieurs situations stressantes du laboratoire. Dr Nabil El Khoury rendait les longues journées d'expérience moins longues, grâce à ses sujets de discussion les unes toujours meilleures que les autres et ses anecdotes farfelues. Mais, ce sont sa persévérance et ses connaissances qui sont une source d'inspiration constante. Je voudrais également remercier toutes les personnes qui m'ont assisté directement ou indirectement à l'Université de Montréal et à l'Institut de cardiologie de Montréal.

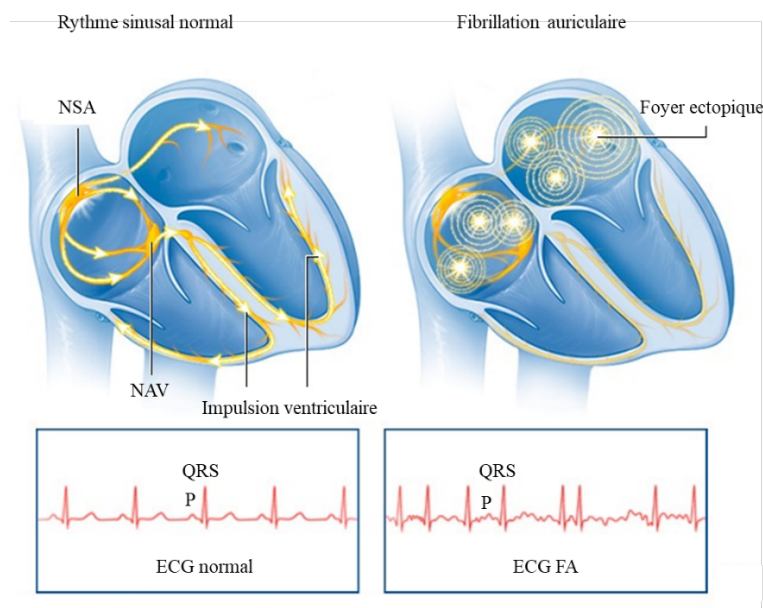
Les études graduées, c'est difficile! C'est un parcours ardu avec des hauts et des bas et sans le support de ma famille et de mes amis, je n'aurai jamais réussi à compléter mes études. Mes parents étant des immigrants, ils m'ont toujours appris de ne jamais abandonner ce que j'entreprends. Ils m'ont toujours inspiré et maintenant je peux partager avec eux mon succès.

Je voudrai également prendre ce temps pour remercier les membres de mon comité de thèse et le corps professoral de l'Université de Montréal de prendre le temps de lire ma thèse et éventuellement avoir une discussion scientifique avec eux d'ici la fin de mes études.

Chapitre 1. Introduction

1.1 – Épidémiologie de la fibrillation auriculaire

Une arythmie cardiaque est une perturbation du rythme et/ou de la fréquence cardiaque normale; les battements peuvent être trop rapides (tachycardie), trop lents (bradycardie), ou irréguliers. Ainsi, la fibrillation auriculaire (FA) est définie comme une propagation électrique rapide, irrégulière et désorganisée au niveau des oreillettes, résultant en une perte de synchronisme entre les oreillettes et les ventricules. Au niveau de l'électrocardiogramme (ECG) des patients atteints de FA, on observe une désorganisation des ondes P (correspondant à l'activité électrique auriculaire) par complexe QRS (représentant la dépolarisation ventriculaire). La Figure 1 présente les différences de propagation électrique et d'électrocardiogramme entre le rythme sinusal normal et la fibrillation auriculaire.



La FA est l'arythmie cardiaque soutenue (>30 secondes) la plus fréquemment rencontrée en clinique. Sa prévalence est de 1 à 2% dans la population générale et double pour chaque décennie d'âge pouvant atteindre jusqu'à 10% chez les personnes âgées de 80 ans et plus. [1, 2] Globalement, la FA affecte plus de 33,5 millions de personnes,[3] soit plus de 350 000 Canadiens et est responsable directement du tiers des hospitalisations liées aux arythmies.[4] La FA représente donc un fardeau médical et économique important pour laquelle de nouvelles avenues thérapeutiques sont nécessaires.

Tout d'abord, en clinique, un épisode de FA (sur un enregistrement d'ECG) doit durer plus de 30 secondes pour être diagnostiquée comme une FA[5, 6] et elle peut se présenter sous trois formes : paroxystique, persistante et permanente. La FA paroxystique est temporaire et est parfois récurrente. Elle disparaît au bout de quelques heures ou jours sans intervention. La forme persistante correspond à une FA d'une durée de plus de sept jours et nécessite une intervention médicale pour permettre au cœur de retrouver un rythme sinusal normal. La forme permanente est une FA avec un rythme cardiaque irrégulier où toutes tentatives de médications et/ou d'interventions afin de rétablir un rythme sinusal ont échoué ou ont été jugées non nécessaires.[7]

Bien que la FA ne soit pas létale en soi, elle est associée à une morbidité et mortalité élevées.[8, 9] L'insuffisance cardiaque, une condition dans laquelle le cœur est incapable de subvenir aux besoins systémiques, peut survenir de plusieurs façons en présence de FA; d'abord, l'irrégularité du rythme cardiaque mène à des anomalies de remplissage diastolique. Également, la fréquence cardiaque élevée peut causer de l'ischémie myocardique et même réduire la force de contraction cardiaque avec une baisse de la fraction d'éjection. La FA triple le risque d'insuffisance cardiaque[10] et vice versa, l'insuffisance cardiaque augmente le risque de FA, soit par une élévation de la pression de remplissage cardiaque ou un dérèglement du Ca^{2+} intracellulaire.[11] De plus, l'absence de contraction auriculaire organisée limite la vidange complète, ce qui cause de la stase pouvant mener à la formation de caillots. Ceux-ci peuvent se déplacer en périphérie provoquant une interruption du flux artériel sanguin, ce qui peut engendrer une embolie périphérique ou un accident vasculaire cérébral (AVC) lorsque cette embolie survient au cerveau. Par ailleurs, l'AVC est la cause de décès la plus fréquente aux

États-Unis et au Canada. Les individus atteints de FA ont trois à cinq fois plus de risques d'avoir un AVC ischémique et il est estimé que 15% des AVC sont causés par la FA; ainsi après l'âge de 80 ans, la FA est responsable du tiers des AVC.[12] Aussitôt que la FA est diagnostiquée, les médecins débutent les traitements anticoagulants pour diminuer les risques de thromboembolies et prévenir les effets dévastateurs de l'AVC dû à la FA.[6]

Tels que présentés à la Figure 2, les facteurs de risques de la FA peuvent varier du diabète (environnement) jusqu'aux maladies congénitales cardiaques (génétique). Cependant, les facteurs de risque les plus communs sont l'hypertension, les anomalies structurelles cardiaques, les conditions cliniques associées à l'activation du système rénine-angiotensine, l'âge et le sexe masculin. Certains de ces facteurs de risque seront discutés en détails dans les sections ci-dessous.

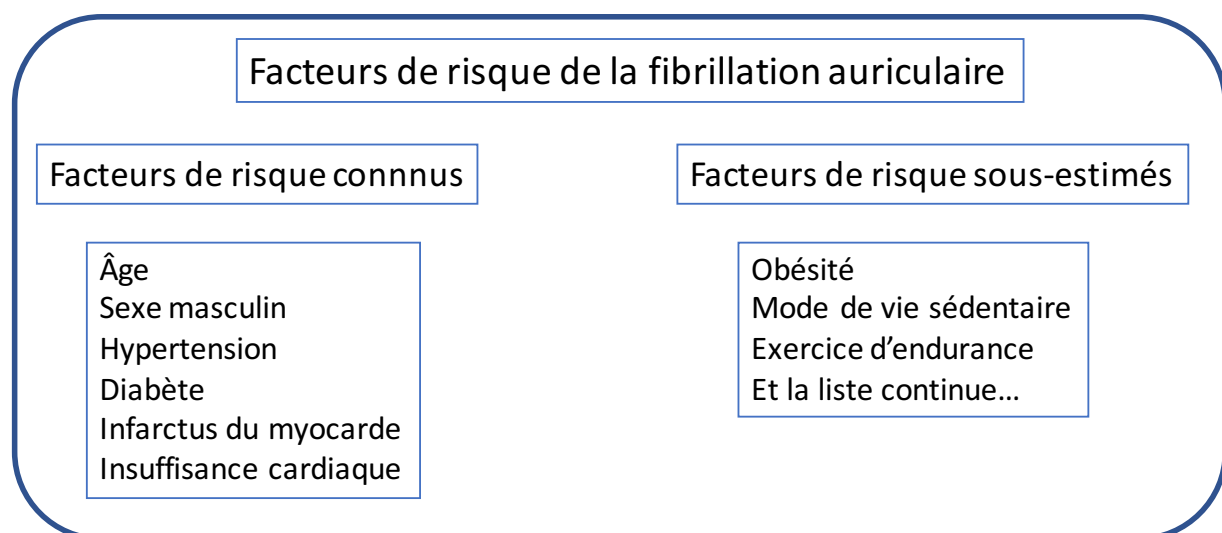


Figure 2. Les facteurs de risque les plus connus de la fibrillation auriculaire. Certains de ces facteurs de risque seront abordés dans le cadre de cette thèse (Figure adaptée de [13]).

1.2 – L'électrophysiologie cardiaque humaine et murine

L'activité électrique du cœur est finement régulée par une balance de courants ioniques. Elle correspond à l'entrée et la sortie d'ions (Na^+ , K^+ et Ca^{2+}) responsables du potentiel d'action. Dans le cadre des travaux de cette thèse de doctorat, deux lignées de souris ont été utilisées, C57BL/6 et CD-1. Bien que les canaux et courants ioniques impliqués dans le potentiel d'action

diffèrent entre l'humain et la souris, une description détaillée de ces différences sera présentée dans les sections suivantes pour démontrer que les données électrophysiologiques obtenues chez la souris peuvent être transposées à l'humain.

Plusieurs différences physiologiques cardiaques existent entre les deux espèces. Tout d'abord, la fréquence cardiaque humaine normale se situe entre 60 et 80 battements par minute,[14-16] tandis que chez la souris elle varie entre 500 et 700 battements par minute.[17-19] Par ailleurs, les différences au niveau de l'ECG de surface sont également importantes. Chez l'humain, l'intervalle PR, la période réfractaire auriculaire et la vitesse de conduction auriculaire sont respectivement de 120 à 200 ms,[20, 21] 172 à 215 ms[22, 23] et 88 ms;[24] chez la souris, ces valeurs sont de 30 à 60 ms,[25-27] 23 à 71 ms[26, 28, 29] et 30 ms respectivement.[30] La Figure 3 démontre certaines des différences mentionnées ci-haut. Il est important de mentionner que le ratio de la masse du cœur en fonction de la masse corporelle est identique dans les deux espèces.[31-33]

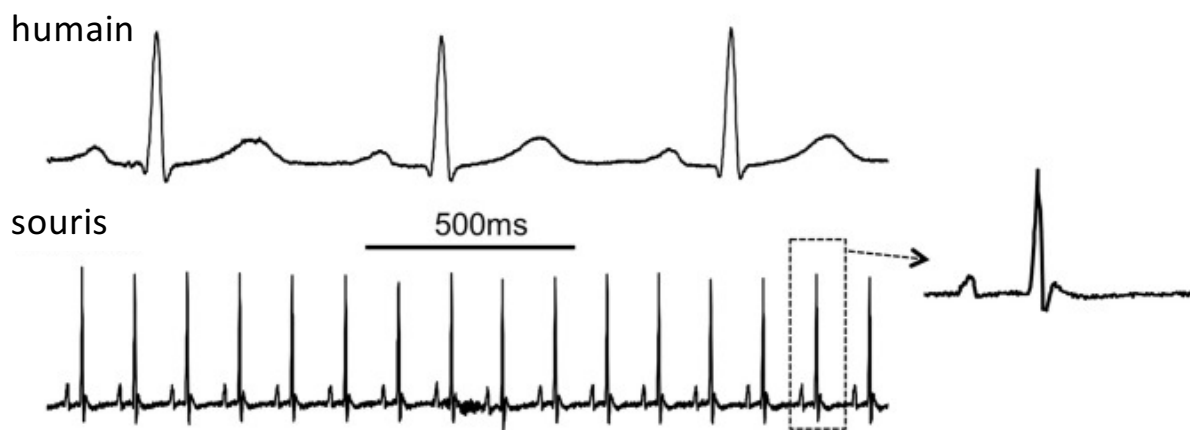


Figure 3. Représentations des ECG typiques chez l'humain et la souris (Figure modifiée de [31]).

1.2.1 – Potentiel d'action auriculaire

La Figure 4 décrit les potentiels d'action auriculaires chez l'humain (gauche) et la souris (droite). Un potentiel d'action auriculaire possède cinq phases. La phase 0 (dépolariation) initie l'activation électrique des cardiomyocytes via l'entrée de Na^+ . [34] Cette entrée massive d'ions positifs dépolariise la membrane de son potentiel membranaire de repos (-80 mV) jusqu'à son amplitude maximale (+30 mV). Ce flux électrique correspond au courant Na^+ (I_{Na}) et est donc

responsable de l'excitabilité et de la conduction de l'influx électrique cardiaque. Par la suite, une phase de repolarisation partielle due à la sortie de K^+ via le courant K^+ transitoire sortant indépendant du Ca^{2+} (I_{to}) correspond à la phase 1. Bien que les canaux K^+ soient responsables de la repolarisation observée durant la phase 3, les canaux K^+ , dont I_{Kur} (le courant K^+ à rectification ultra-rapide) sont activés avant le début de la phase plateau (phase 2). La phase plateau correspond à un équilibre entre les courants sortants K^+ et entrants : courant calcique de type-L (I_{CaL}) et Na^+ persistant. L'entrée de Ca^{2+} via I_{CaL} permet d'augmenter la concentration calcique cytosolique via le mécanisme de relâche calcique induite par le Ca^{2+} . [35] La contraction cardiaque est contrôlée par le Ca^{2+} et débute durant la phase plateau. Suite à la repolarisation, phase 3, à laquelle I_{K1} contribue également, le maintien du potentiel de repos est assuré par I_{K1} (courant K^+ à rectification entrante) et I_{KACH} (courant K^+ à rectification entrante activé par l'acétylcholine présente spécifiquement dans les oreillettes). Également durant cette phase, l'échangeur Na^+/Ca^{2+} (sortie d'un ion Ca^{2+} contre l'entrée de trois ions Na^+) et la pompe Na^+/K^+ -ATPase (sortie de trois ions Na^+ contre deux ions K^+) permettent à la cellule de retrouver sa concentration ionique physiologique correspondant au potentiel de repos. La repolarisation cardiaque correspond ainsi à un retour au niveau du potentiel de repos cellulaire préparant la cellule au prochain potentiel d'action. Bien que la majorité des canaux impliqués dans le potentiel d'action auriculaire de la souris soient semblables à l'humain (I_{Na} , I_{CaL} , I_{to} , I_{Kur} et I_{K1}), certains canaux importants dans la repolarisation auriculaire humaine ne sont pas présents chez la souris, soit I_{Kr} et I_{Ks} . Ces canaux sont résumés dans le Tableau 1.

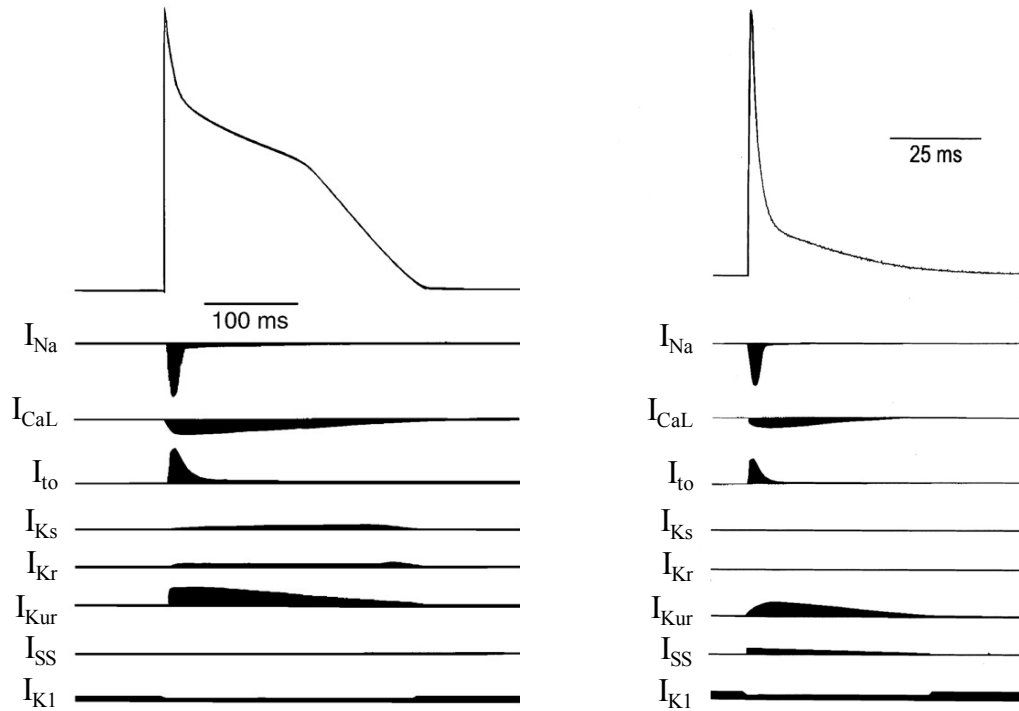


Figure 4. Les différents courants ioniques impliqués dans le potentiel d'action auriculaire humain (A) et murin (B) (Figure modifiée de [36, 37]).

Tableau 1. Liste des canaux et des courants impliqués dans le potentiel d'action auriculaire chez la souris et l'humain.

*Ces canaux sont exprimés, mais ne possèdent pas de rôle fonctionnel.

COURANTS	CANAUX	
	Souris	Humain
I_{Na}	Nav1.5[36]	Nav1.5[38]
I_{to}	Kv4.2, Kv4.3[39]	Kv4.3[40]
I_{CaL}	Cav1.2[36]	Cav1.2[38]
I_{Kur}	Kv1.5[41]	Kv1.5[42, 43]
I_{Ks}	Kv7.1*	Kv7.1[44]
I_{Kr}	Kv11.1*	Kv11.1[44]
I_{K1}	Kir2.1[36]	Kir2.1[38]
I_{KACh}	Kir3.1, Kir3.4[36]	Kir3.1, Kir3.4[45]

1.2.2 – Période réfractaire cardiaque

Quand on parle de potentiel d'action et de propagation électrique, il est important de comprendre le principe de période réfractaire, lequel contrôle l'excitabilité cellulaire. Le cardiomyocyte possède trois périodes réfractaires, soit absolue (PRA), effective (PRE) et relative (PRR). La PRA, aussi appelée inexcitabilité totale, correspond à la phase 0, 1, 2 et au début de la phase 3 du potentiel d'action. Durant la PRA, les canaux Na^+ sont inactivés et aucun nouveau potentiel d'action ne peut être déclenché. Toutefois, certains médicaments, mutations génétiques ou changements électrophysiologiques modifiant la durée du potentiel d'action peuvent également affecter la PRA. La PRE correspond à la fin de la phase 3 et représente la période durant laquelle le cardiomyocyte redevient électriquement excitable. Ainsi, durant la PRE, un stimulus peut seulement causer une dépolarisation cellulaire locale qui ne peut pas se propager dans les myocytes adjacents. La PRR correspond à la fin de la phase 3 du potentiel d'action. Les myocytes deviennent excitables lorsque les stimuli sont supérieurs au seuil de déclenchement du potentiel d'action. Les dépolarisations déclenchées durant cette phase peuvent être propagées. Finalement, la période hyperexcitable du potentiel d'action correspond au potentiel de repos membranaire (-80 mV). Cette période supranormale (PSN) correspond à la phase durant laquelle certains canaux ioniques, dont le canal Na^+ , peuvent se réactiver lors d'une stimulation électrique inférieure au seuil de déclenchement du potentiel d'action. Cette dépolarisation déclenche un nouveau potentiel d'action qui sera propagé aux myocytes voisins. En condition normale, un potentiel d'action ne peut être déclenché durant ces périodes réfractaires; toutefois, il est possible qu'on observe une dérégulation des courants ioniques, causant une diminution de la durée des périodes réfractaires, entraînant l'apparition d'une extrasystole (réactivation inhabituelle des canaux entrants pendant certaines périodes réfractaires). Ainsi, une extrasystole à la fin de la phase 2 ou au début de la phase 3 est appelée une post-dépolarisation précoce (EAD, *early afterdepolarization*) tandis qu'en phase 4, elle s'appelle une post-dépolarisation retardée (DAD, *delayed afterdepolarization*); ces extrasystoles peuvent causer des problèmes d'excitabilité, de synchronisme et des arythmies. Brièvement, une post-dépolarisation précoce est due à une réactivation d' I_{CaL} suite à une prolongation de la phase plateau. En condition physiologique, NCX permet d'éliminer 25% du Ca^{2+} cytosolique; par contre, dans certaines conditions pathologiques où la concentration de

Ca^{2+} augmente, l'activité de NCX est plus importante et entraîne une plus grande entrée de Na^+ réactivant ainsi I_{Na} et cette réactivation cause une post-dépolarisation retardée. Cette notion de période réfractaire est donc importante pour la compréhension de la fibrillation auriculaire. En effet, lorsque des changements ioniques sont perçus, la durée du potentiel d'action et la PRA sont diminuées, rendant le myocyte auriculaire hyperexcitable comparativement aux ventricules. La Figure 5 résume l'implication des périodes réfractaires mentionnées ci-dessus.

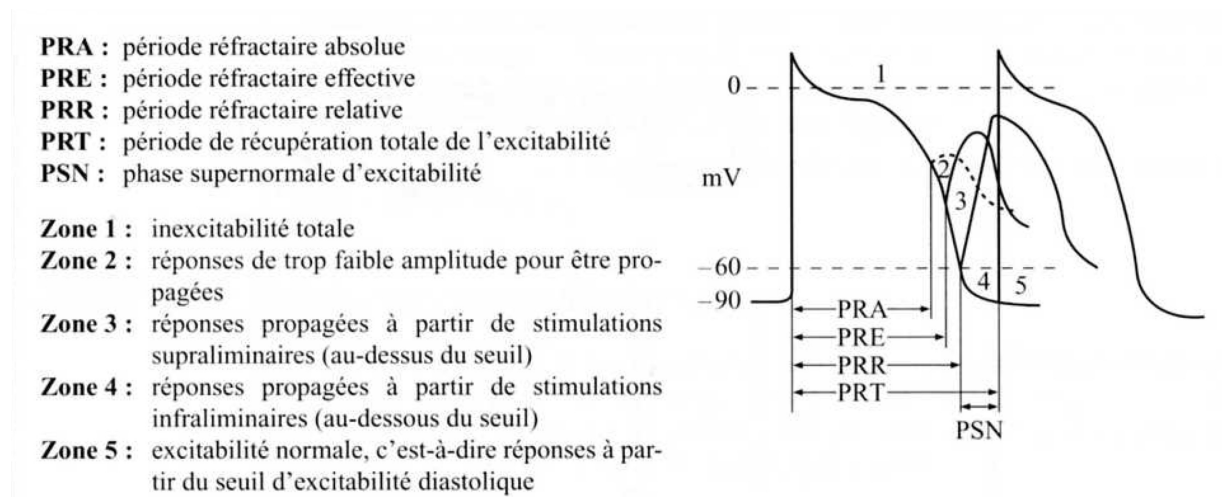


Figure 5. Représentation des différentes phases impliquées durant un potentiel d'action ainsi que les périodes réfractaires (Figure tirée du livre Les arythmies cardiaques par Beaumont, ISBN : 9782891059503).

1.2.3 – Connexines cardiaques

Les connexines (Cx) sont des protéines logées au niveau des disques intercalaires et exprimées à la membrane sarcoplasmique des cardiomyocytes. Lorsque les Cx de deux cardiomyocytes sont liées longitudinalement, elles forment une *jonction gap* (ou jonction communicante). Tel que présenté à la Figure 6, les Cx permettent de former un lien entre les compartiments cytoplasmiques de cellules adjacentes et offrent une voie de faible résistance au couplage électrique entre les cardiomyocytes. Ainsi, les Cx sont responsables de la propagation rapide et synchronisée de l'influx électrique entre les cardiomyocytes.

Les Cx permettent aux ions et certaines molécules de taille inférieure à 2 kDa de passer d'un milieu cytoplasmique à celui de la cellule adjacente.[46] La propagation de l'influx électrique se fait donc lorsque les ions Na^+ passent à travers les Cx de la cellule dépolarisée vers

celle qui est dans un état d'excitabilité normale. Ainsi, cette augmentation de la concentration sodique cytosolique cause une augmentation du voltage membranaire, suffisamment pour atteindre le seuil d'activation des canaux Na^+ (car, ce sont des canaux voltage-dépendants); ce qui dépolarise davantage la cellule et déclenche un potentiel d'action qui entraînera la propagation de l'influx électrique vers sa cellule voisine.[47]

Cellules musculaires cardiaques

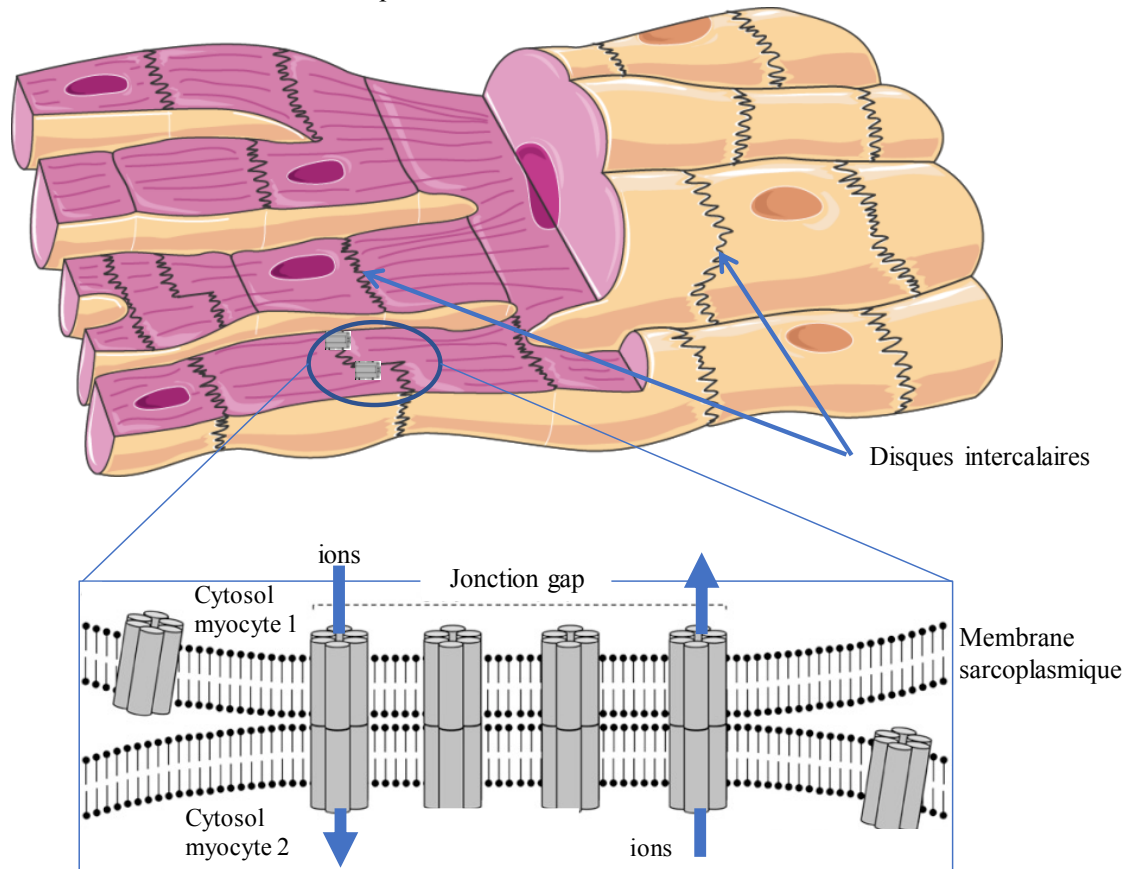


Figure 6. Représentation des *jonctions gap* entre deux cardiomyocytes adjacents.

Six connexines forment un connexon et deux connexons de part et d'autre de la membrane sarcoplasmique représentent une *jonction gap* (Figure modifiée de [48]).

Au niveau cardiaque, il existe trois principales formes de Cx cardiaques : Cx40, Cx43 et Cx45; elles sont identifiées selon leur poids moléculaire et sont exprimées différemment dans chaque région cardiaque. La Figure 7 montre l'expression majoritaire des formes distinctes de Cx dans les différentes régions du cœur. Brièvement, les Cx43 sont présentes majoritairement dans les ventricules, alors que l'expression des Cx40 est principalement au niveau des

cardiomyocytes auriculaires et les Cx45 sont exprimées de façon prédominante dans les cellules du système de conduction cardiaque, tel que le nœud sinusal (NSA) et auriculo-ventriculaire (NAV).[48-53] De plus, les Cx31.9 et 30.2, respectivement chez l'humain et la souris, ont été retrouvées dans certaines cellules du système de conduction cardiaque, avec un rôle plus important au niveau du NAV.[54-59] Les connexines se différencient également les unes des autres par leur conductance; la conductance unitaire des Cx40, Cx43, Cx45 et Cx31.9 sont respectivement de 200 pS, 60-100 pS, 20-40 pS et 9 pS. Ces valeurs expliquent la plus grande vitesse de conduction auriculaire (environ 80 cm/s) comparativement à celle de l'extension nodale (≤ 10 cm/s).[60] Une vitesse de conduction rapide est une propriété attendue dans la propagation du potentiel d'action cardiaque; tandis qu'au niveau du NAV, le ralentissement de conduction permet aux oreillettes de terminer leur contraction afin de remplir les ventricules efficacement.[61]

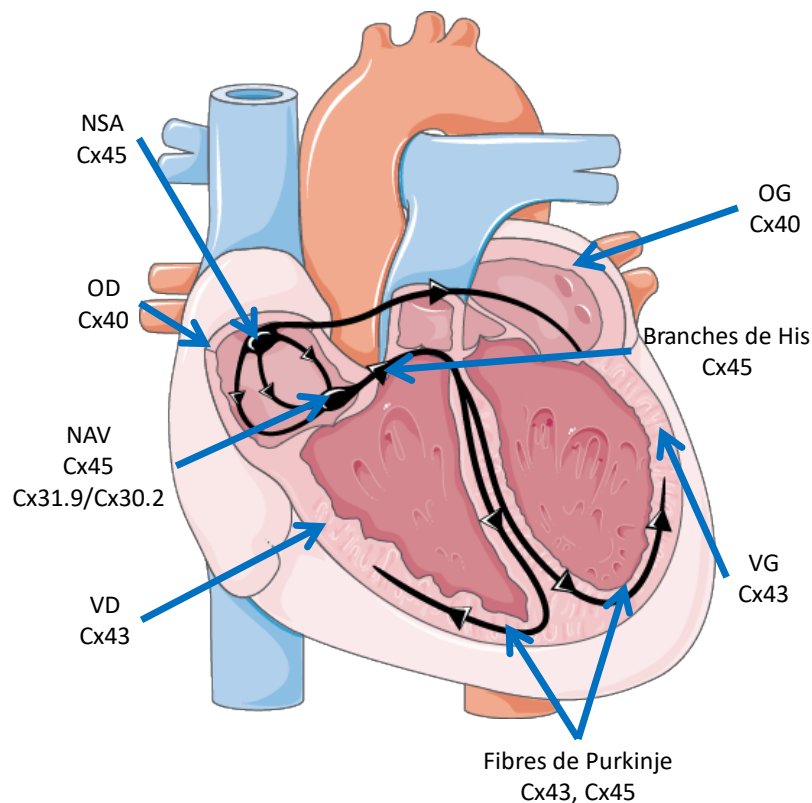


Figure 7. Localisation des différentes formes de Cx exprimées dans le cœur. NSA : nœud sinusal. OD : oreillette droite. NAV : nœud auriculo-ventriculaire. VD : ventricule droit. OG : oreillette gauche. VG : ventricule gauche. Cx : connexines

Les Cx45 jouent un rôle critique dans le développement cardiaque. En effet, un modèle de souris génétiquement modifiées privées (KO) de Cx45 ne survit pas au-delà du 10^e jour embryonnaire. Les embryons murins meurent dû à une incapacité contractile des myocytes ainsi que d'un problème de conduction cardiaque.[62, 63] Les Cx43 quant à elles ne sont pas nécessaires au développement cardiaque; par contre, les souris Cx43-KO meurent rapidement après la naissance dû à une obstruction du flot sanguin du ventricule droit causant un mauvais échange gazeux au niveau des poumons.[64] Bien que les souris Cx40-KO survivent jusqu'à la naissance, elles présentent des malformations cardiaques et ont de graves problèmes dans la propagation de l'influx électrique dans le système de conduction cardiaque.[65-68] Ceci démontre que les Cx43 et Cx40 sont essentielles dans la propagation électrique postnatale, tandis que les Cx45 jouent un rôle de grande importance dans le développement prénatal principalement au niveau du système de conduction.

En clinique, les associations entre les connexines cardiaques et les pathologies sont nombreuses. Par exemple, il a été rapporté qu'une baisse de l'expression de Cx43 est liée à une plus haute susceptibilité de tachycardies ventriculaires.[69, 70] Par ailleurs, les souris transgéniques ayant une expression de Cx43 réduite présentent une diminution de 50% de la vitesse de propagation ventriculaire, les rendant facilement vulnérables à l'induction d'arythmies ventriculaires.[71, 72] Au niveau auriculaire, les souris Cx40-KO présentent une diminution de la vitesse de conduction auriculaire avec prolongation de l'onde P sur l'ECG.[65, 73-75] Bien que l'implication des Cx40 dans la fibrillation auriculaire soit de plus en plus reconnue, les résultats rapportés dans la littérature sont encore contradictoires. Les études tentent de déterminer si une diminution de l'expression des Cx40 prédispose le cœur aux FA ou bien la FA cause l'apparition du remodelage structurel des Cx (voir section 1.3.1) observé chez les patients souffrant de FA.

1.3 – Le remodelage auriculaire

Les principaux mécanismes impliqués dans la FA sont la réentrée et les foyers ectopiques; ils sont présentés à la Figure 8. [76-78] La réentrée auriculaire est un phénomène par lequel le circuit électrique des oreillettes ne suit pas son cours normal, puisqu'un circuit

alternatif est présent, permettant la réactivation des canaux ioniques du cardiomyocyte de façon prématurée. La réentrée est causée par la combinaison d'une réduction de la période réfractaire et d'une diminution de la vitesse de conduction.[79-83] Pour leur part, les foyers ectopiques sont causés par des décharges électriques aléatoires provenant des cellules à l'origine des veines pulmonaires, [84-88] où la présence de tissu automatique a été observée.[89, 90] Nguyen *et al.* et Morel *et al.* ont démontré la présence de canaux HCN4 (impliqués dans l'automaticité du NSA) et de cellules de Cajal (cellules pacemaker au niveau du muscle lisse) au niveau des cellules avoisinant les veines pulmonaires.[91, 92] Les foyers ectopiques peuvent également être causés par une surcharge de Ca^{2+} cytosoliques,[93] via l'apparition de post-dépolarisation précoce et retardé, par la réactivation d' I_{CaL} et d' I_{Na} suite à l'activation inverse de NCX (entrée de trois ions Na^+ contre la sortie d'un ion Ca^{2+}). Plusieurs études démontrent que l'initiation et le maintien de la FA ne sont pas dépendants d'un seul mécanisme, mais plutôt d'une combinaison entre l'activité des foyers ectopiques et la réentrée.[94-96]

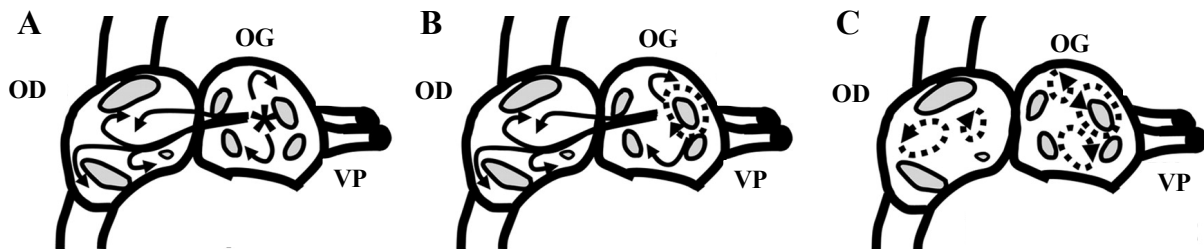


Figure 8. Les principaux mécanismes impliqués dans le développement de la FA. (A) l'apparition de foyers ectopiques et (B) le circuit de réentrée simple. (C) Le maintien de la FA est possible grâce à de multiples circuits de réentrée. L'origine des événements de réentrées lors de FA provient des oreillettes gauches et plus précisément, de l'appendice et du mur postérieur interauriculaire gauche; tandis que les foyers ectopiques se retrouvent autour des veines pulmonaires.[97-100] OD : oreillette droite. OG : oreillette gauche. VP : veine pulmonaire. (Figure adaptée de [101]).

En résumé, il est probable que la FA soit initiée par un foyer ectopique et maintenue par la réentrée. Ces deux mécanismes entraînent le déclenchement de potentiels d'actions irréguliers au niveau des cardiomyocytes qui peuvent entraîner quatre principales formes de remodelages: électrophysiologique, structurel, contractile et neuronal.

1.3.1 – Le remodelage électrophysiologique

Tout d'abord, le remodelage électrophysiologique favorisant la FA est caractérisé par une diminution de la durée du potentiel d'action, de la période réfractaire effective et de la vitesse de conduction.[77, 101-103] Toutefois, l'origine de la FA est souvent diverse et il est possible qu'une prolongation de la durée du potentiel d'action favorise le développement de la FA, par exemple lorsqu'elle est causée par une post-dépolarisation précoce. Ces changements sont dus à une altération de la balance entre l'entrée et la sortie des ions.[79, 93] En effet, une perturbation électrique des courants ioniques entrants et sortants ainsi que des connexines cardiaques augmentent les risques de déclenchement de FA, en facilitant la réentrée auriculaire causée par le raccourcissement de la période réfractaire et les anomalies au niveau des propriétés de conduction, telles qu'un retard de conduction ou une hétérogénéité de la propagation électrique.[95, 104-106] Par ailleurs, une fois la FA installée, il a été démontré tant expérimentalement que cliniquement, que la FA peut causer davantage de remodelages électrophysiologiques et/ou structurels au niveau auriculaire qui vont favoriser le maintien de la FA. [28, 95] Il en résultera une plus grande diminution de la durée du potentiel d'action et/ou de la période réfractaire; ce remodelage facilite la réapparition de la FA, menant à l'adage : « *AF begets AF* » (la FA engendre la FA).

Chez les patients atteints de FA, une altération des courants K^+ dépendants du voltage a été observée et les médicaments bloquant les courants K^+ , tels que MK-0448 (bloqueur d' I_{Kur}) et dofétilide (bloqueur d' I_{Kr}), préviennent sa récurrence via l'augmentation de la durée de la période réfractaire auriculaire.[79, 107-109] Le courant I_{Kur} , spécifiquement exprimé au niveau auriculaire, influence fortement la repolarisation des oreillettes.[110, 111] Donc, une augmentation de ce courant repolarisant diminue la durée du potentiel d'action et causerait une plus grande susceptibilité à la FA. En clinique, le remodelage électrique ne semble pas uniforme, certaines études suggèrent un gain de fonction d' I_{Kur} [112, 113] alors que d'autres au contraire ont démontrées une perte de sa fonction.[114, 115] Cette apparente contradiction s'explique par les deux principaux mécanismes de la FA mentionnés auparavant, soit la réentrée et les foyers ectopiques. En effet, la réentrée peut survenir lors d'une diminution de la durée du potentiel d'action, tandis que les foyers ectopiques peuvent apparaître lorsque le potentiel d'action est prolongé. Ainsi, un gain de fonction d' I_{Kur} favorise la réentrée électrique,[116] tandis qu'une

perte de sa fonction favorise l'apparition de foyers ectopiques suite à un déclenchement de EAD.[9, 117, 118]

Une situation similaire a été démontrée en clinique pour I_{Kr} (gain et/ou perte de fonction) des patients atteints de FA.[119, 120] Par contre, les études pointent vers un gain de fonction d' I_{Ks} dans les cas de FA; effectivement, une augmentation de ce courant entraîne une réduction de la durée du potentiel ainsi que de la période réfractaire auriculaire, favorisant la réentrée.[121-123] Quant à I_{to} , une réduction de ce dernier a été rapportée chez les patients atteints de FA. Ce courant, rapidement activé, produit un courant sortant qui s'oppose à l'entrée de Na^+ et de Ca^{2+} durant les phases de dépolarisation et de plateau, respectivement. Une diminution d' I_{to} facilite la propagation électrique en augmentant l'amplitude et la vitesse de dépolarisation du potentiel d'action, permettant une meilleure propagation de l'impulsion électrique.[111, 124-126] Ainsi, il est possible que la diminution d' I_{to} observée chez les patients atteints de FA soit un mécanisme compensatoire plutôt que déclencheur. En effet, cette diminution d' I_{to} permet de prolonger la durée du potentiel d'action.

Il a été rapporté que le potentiel de repos membranaire des cardiomyocytes, régulé par les canaux K^+ à rectification entrante (I_{K1} et I_{KACH}), est plus hyperpolarisé chez les patients atteints de FA.[127-131] Comme ces courants possèdent une portion entrante et sortante, une augmentation de la portion sortante de ces courants K^+ contribue au raccourcissement de la durée du potentiel d'action et favorise le déclenchement de réentrées chez les patients en FA.[77, 108] Tout d'abord, une augmentation d' I_{K1} et de l'expression de Kir2.1 (sous-unité α) sont souvent rapportées chez les patients atteints de FA.[127, 132, 133] Les courants I_{KACH} , activés par la relâche d'acétylcholine lors d'une stimulation vagale, sont exprimés spécifiquement au niveau auriculaire comme I_{Kur} . Ainsi, une augmentation de l'activité vagale favorise la FA en stabilisant les circuits de réentrées auriculaires.[134] Il a été rapporté que chez les patients atteints d'une FA chronique, I_{KACH} développe une activité agoniste constitutive (une activité spontanée du récepteur, I_{KACH} , en absence du médiateur endogène, acétylcholine). I_{KACH} contribue donc à l'augmentation du courant K^+ à rectification entrante et augmente la susceptibilité à la FA en hyperpolarisant le potentiel de repos membranaire et en réduisant la durée du potentiel d'action.[128, 135]

Lors d'une FA soutenue, en plus d'être désorganisée, la fréquence de contraction auriculaire est augmentée et cette dernière entraîne une augmentation de la concentration calcique cytosolique. Ainsi, pour compenser cette surcharge, les cardiomyocytes auriculaires diminuent l'influx de Ca^{2+} via une réduction d' I_{CaL} , ce qui a comme conséquence négative de diminuer la durée du potentiel d'action et de promouvoir la réentrée.[79, 136-138] Initialement, ce mécanisme compensatoire est dû à l'inactivation du canal, mais ce remodelage cause un changement dans les propriétés cinétiques de récupération du canal. En effet, une augmentation Ca^{2+} intracellulaire augmente l'inactivation d' I_{CaL} et entraîne donc une diminution de la densité d' I_{CaL} et de la durée du potentiel d'action.[93, 139] Par contre, à plus long terme, cette baisse d' I_{CaL} peut résulter d'une diminution de l'expression d'ARNm de Cav1.2 (la sous-unité α) ou de mécanismes post-transcriptionnels, comme une déphosphorylation ou détérioration de la protéine.[93, 140-142] Comme I_{CaL} est une composante majeure dans la phase plateau du potentiel d'action, une diminution de la densité d' I_{CaL} entraîne une réduction de la durée du potentiel d'action et de la période réfractaire favorisant ainsi l'induction et le maintien de la FA par un phénomène de réentrée.[104] Bref, le remodelage électrophysiologique du courant Ca^{2+} de type-L augmentant le risque de FA serait possiblement induit suite à l'apparition de la FA, favorisant sa persistance, d'où l'expression « *AF begets AF* » (la FA engendre la FA).

L'activation des canaux Na^+ permet l'entrée massive de Na^+ dans le myocyte cardiaque et correspond à l'initiation du potentiel d'action, la dépolarisation (Phase 0). Suite à cette activation rapide, il est nécessaire que ce courant Na^+ soit inactivé pour permettre une repolarisation efficace du potentiel d'action. Par contre, l'ouverture des canaux sodiques peut être maintenue après la phase 0 et persiste jusque dans la phase plateau du potentiel d'action. Ainsi, une augmentation du courant Na^+ soutenu (I_{NaL}) dans la phase plateau entraîne une augmentation de la durée du potentiel d'action et peut causer une post-dépolarisation précoce suite à la réactivation d' I_{CaL} ou à l'activation inverse de l'échangeur Na^+/Ca^{2+} (sortie d'un ion de Ca^{2+} contre l'entrée de trois ions de Na^+).[102, 143-145] Chez les patients souffrant de FA permanente, une augmentation de densité d' I_{NaL} a été observée.[146] Également, il a été rapporté que les patients atteints du syndrome de long QT 3 (diminution de l'inactivation du canal Na^+) ont une plus grande incidence de FA.[147-150] Puisque, le courant Na^+ initie la conduction cardiaque, une perte de fonction de ce courant peut entraîner une hétérogénéité de l'excitabilité,

de la repolarisation et de la vitesse de conduction, favorisant ainsi l'apparition du phénomène de réentrée.[102, 104, 126, 151, 152] Certaines études animales ont montré qu'une réduction de la vitesse de conduction est partiellement due à une régulation à la baisse d' I_{Na} . [152] Il est possible qu'une inactivation incomplète du canal $Nav1.5$ cause de la FA spontanément par prolongation de la durée du potentiel d'action, due à une perturbation de la propagation électrique ou de l'homéostasie Ca^{2+} intracellulaire menant vers le développement de la fibrose et de l'hypertrophie.[76, 102, 153] En plus d'avoir un rôle dans la contraction du myocyte, le Ca^{2+} joue un rôle fondamental dans l'activation de deux voies de signalisation dépendantes du Ca^{2+} impliquées dans le contrôle de l'hypertrophie cardiaque, soit la CaMKII (« *Ca²⁺-calmodulin-dependent protein kinase II* ») et NFAT (« *nuclear factor of activated T cells* »).[154, 155] La Figure 9 résume les changements électrophysiologiques ioniques attendus dans les cas de FA qui se développent suite à une réentrée ou un foyer ectopique.

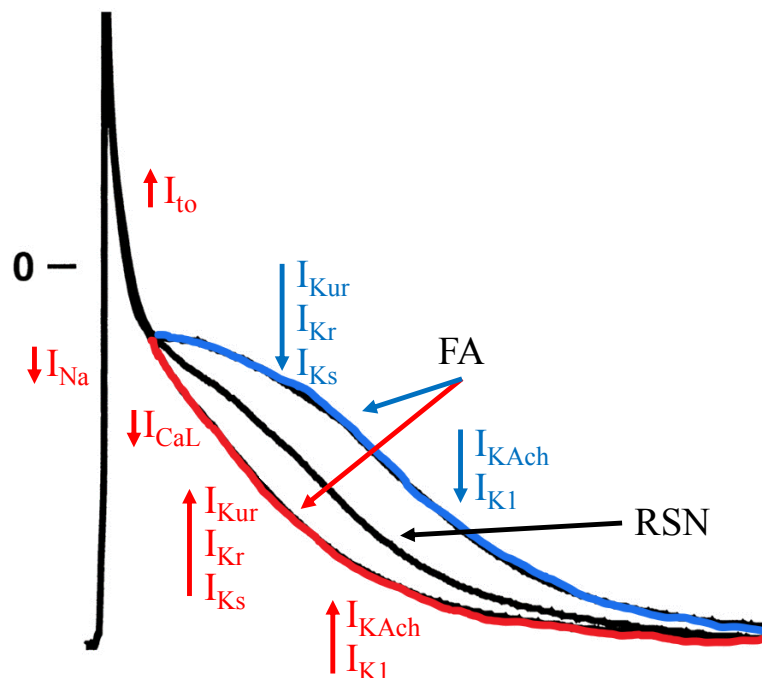


Figure 9. Représentation des potentiels d'action en rythme sinusal normal (RSN) et lors de la fibrillation auriculaire (FA). Les changements de courants entrants (Na^+ et Ca^{2+}) et sortants (K^+) sont potentiellement les causes du remodelage électrophysiologique (en lien avec les courants ioniques) impliqué dans la FA. Le tracé en noir correspond au RSN, tandis que les tracés rouges et bleus correspondent aux possibles conditions de FA (Figure modifiée de [156]).

Après le déclenchement de la conduction cardiaque par les courants Na^+ , l'influx électrique est maintenu et propagé à travers le tissu cardiaque à l'aide des connexines (Cx). Les Cx permettent donc la propagation rapide et ordonnée de l'influx électrique entre les cardiomyocytes adjacents. En clinique, une altération protéique et génique des Cx40 a été observée chez les patients atteints de FA.[157, 158] Par ailleurs, des études ont montré qu'un polymorphisme au niveau des Cx40 est lié à un plus haut risque de développement de FA.[159] Bien que la physiopathologie et les facteurs de risques entre l'insuffisance cardiaque et la fibrillation auriculaire soient semblables, l'insuffisance cardiaque est souvent la cause, mais aussi une conséquence de la FA. [160, 161] Plusieurs études ont rapporté une diminution de l'ARNm des Cx43 au niveau du ventricule gauche chez les patients atteints d'insuffisance cardiaque et de cardiomyopathies ischémiques ; ainsi cette baisse de connexines peut donc être indirectement liée à une plus haute prévalence de FA.[162-164]

Lors de la fibrillation auriculaire, une réduction de l'expression de Cx40 contribue à une baisse de la vitesse de conduction et augmente le risque de réentrées;[108, 132, 165] tandis qu'une augmentation de l'expression de Cx40 est souvent accompagnée d'une latéralisation des Cx. Cette latéralisation des Cx cause une augmentation de l'hétérogénéité de l'expression des Cx et une dissociation électrique longitudinale entre les myocytes d'une même couche cellulaire. Elles ne sont plus simplement exprimées aux extrémités des cardiomyocytes, mais également sur les côtés favorisant une conduction hétérogène.[166-168] De ce fait, l'influx électrique ne circulera plus simplement de façon longitudinale, mais également de façon latérale, causant l'apparition de réentrée. La Figure 10 démontre la conduction hétérogène suite à une expression latérale des Cx et potentiellement le circuit de réentrée dû au remodelage de l'expression des connexines. Des études sur un modèle animal ayant une déficience de Cx40 ont démontré un changement dans le couplage électrique auriculaire accompagné d'une plus grande susceptibilité à la FA.[65, 73, 169, 170] Bien qu'il y ait de la confusion dans la quantification de l'expression des Cx, toutes les études concluent que l'hétérogénéité et la latéralisation dans l'expression des Cx jouent un rôle majeur dans les troubles de conduction et représentent des éléments déclencheurs potentiels de FA, en particulier causée par la réentrée.[105, 171, 172] Finalement, bien que certaines études aient reporté la présence des

Cx43 au niveau des oreillettes, elles montrent que les Cx43 ne sont pas impliquées dans l'initiation et le maintien de la FA tant dans les modèles animaux que chez les humains.[166, 173-176]

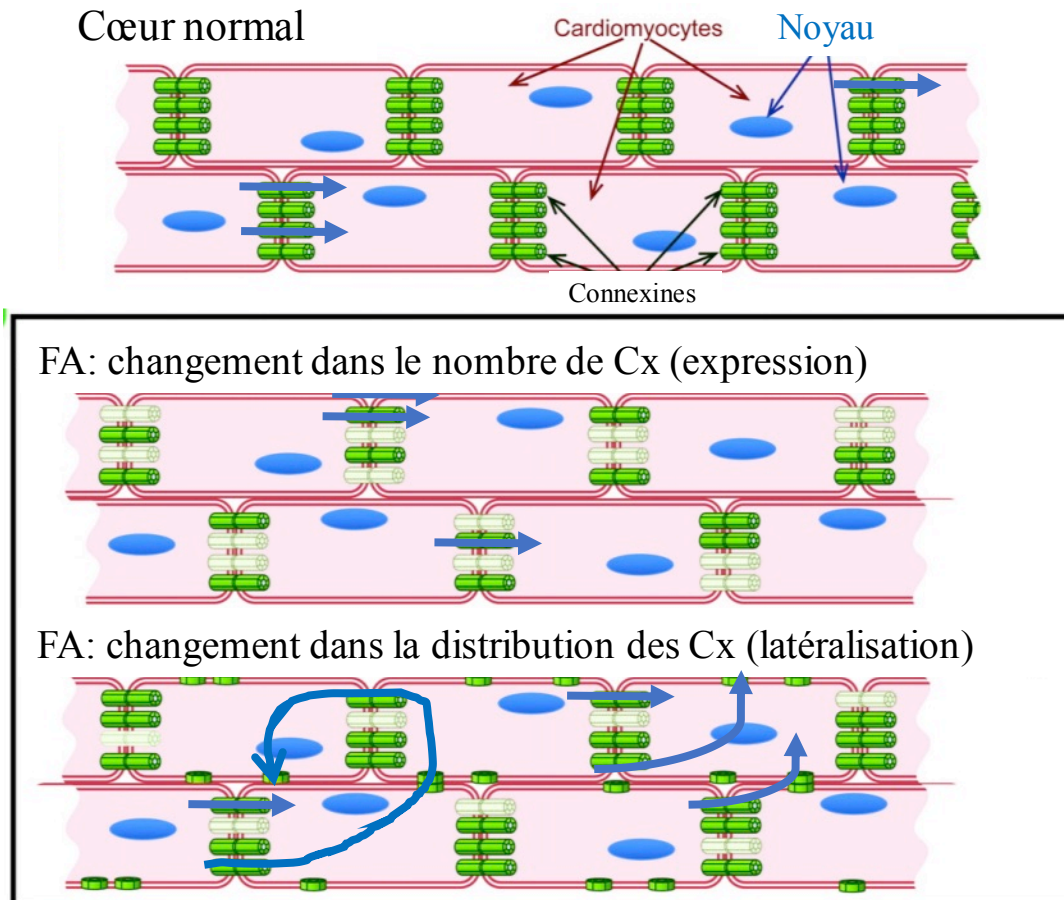


Figure 10. Expression et disposition des connexines dans un cœur sain et atteint de fibrillation auriculaire. Il existe une latéralisation des Cx ainsi qu'une diminution de l'expression protéique aux extrémités des cardiomyocytes. FA : fibrillation auriculaire. Cx : connexines (Figure modifiée de [177]).

Une combinaison entre l'arythmogénicité (due aux variations électrophysiologiques via un raccourcissement de la période réfractaire effective), l'augmentation de la latéralisation et les changements de l'impulsion et de la conduction électrique (due aux remodelages de connexines ainsi que des canaux Na^+) peut initier et maintenir la FA.

1.3.2 – Le remodelage structurel

Le remodelage structurel est un processus aussi important que le remodelage électrophysiologique. En effet, la présence de fibrose, d'hypertrophie ou de dilatation auriculaire favorise la réentrée, diminue la vitesse de conduction et est la principale cause de remodelage structurel chez les patients atteints de FA.[78, 178] L'angiotensine II (Ang II) et le TGF- β 1 (« *transforming growth factor β 1* ») sont les principales molécules impliquées dans le signal profibrotique.[179-182] L'utilisation d'inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (IECA) diminue partiellement la fibrose cardiaque et semble être associée, en clinique, à une diminution des risques de survenue de FA chez les patients avec insuffisance cardiaque.[183]

Les athlètes faisant de l'activité physique d'endurance, tels que les marathoniens et les triathlètes, sont deux à dix fois plus susceptibles de souffrir de FA.[184-187] Il a été rapporté que l'exercice physique d'endurance et la surcharge volumique chronique sont les principaux médiateurs de la dilatation auriculaire, du raccourcissement de la période réfractaire effective et d'une augmentation de la vulnérabilité des oreillettes aux arythmies.[184, 188-190] Plusieurs mécanismes peuvent expliquer la plus haute prévalence à la FA, soit l'inflammation et l'augmentation de la taille des oreillettes et du tonus vagal.[189, 191, 192] L'augmentation du tonus vagal entraîne une synthèse plus accrue d'acétylcholine et cause une plus grande activation d' $I_{K_{Ach}}$. [193] Ceci démontre qu'en plus d'avoir des effets au niveau du remodelage structurel, l'exercice d'endurance favorise également le remodelage électrophysiologique. En effet, comparativement à la population générale, ces athlètes ont un tonus vagal plus élevé et sont bradycardes, ce qui affecte leur période réfractaire auriculaire.[188, 194, 195] L'apparition de FA chez ces athlètes survient surtout durant leur sommeil, période où leur fréquence cardiaque est plus basse. De plus, les athlètes masculins sont quatre fois plus susceptibles de souffrir de FA que les athlètes féminines, ce qui démontre davantage l'implication du sexe masculin dans la prévalence à la FA.[196-200] En effet, le remodelage structurel lié à l'exercice d'endurance est plus sévère chez les hommes comparativement aux femmes et ceci peut expliquer la plus haute prévalence de FA chez les athlètes masculins.[201] En lien avec cette observation, il a été rapporté que les athlètes utilisant des stéroïdes anabolisants ont un risque plus élevé de développer de la fibrillation auriculaire.[202, 203] Récemment, il a été démontré

que la pratique d'exercices d'endurance peut induire des altérations ischémiques, augmenter la fibrose tissulaire au niveau du système de conduction cardiaque, endommager les jonctions gap et diminuer l'expression de Cx43.[204, 205]

Le tissu fibreux peut physiquement séparer les fibres musculaires et ainsi interrompre la continuité du muscle cardiaque créant une barrière de conduction.[171] Cette barrière perturbe donc la conduction cardiaque normale et peut induire la réentrée (Figure 11). Le processus de remodelage structurel cause non seulement une dissociation électrique longitudinale (entre les cardiomyocytes d'une même couche cellulaire), mais dissocie également les différentes couches cellulaires (épicaarde, myocaarde et endocaarde) créant une barrière tridimensionnelle.[206] Par ailleurs, la fibrose est causée par une prolifération de fibroblastes et de leur différenciation en myofibroblastes.[207] La fibrose augmente également l'interaction fibroblastes-cardiomyocytes.[208, 209] Les fibroblastes produisent des protéines de la matrice extracellulaires pouvant être profibrotiques et affectent ainsi le phénotype des myocytes. En effet, les protéines sécrétées sont les TGF- β 1, CTGF (« *connective-tissue growth factor* ») et PDGF (« *platelet-derived growth factor* »). Ces molécules sont impliquées dans la stimulation autocrines et paracrines lors de la prolifération et de la différenciation des fibroblastes.[181, 210, 211] Par exemple, dans un modèle de souris surexprimant TGF- β 1, Verheule *et al.* ont montré une plus grande susceptibilité à la FA chez ces souris due au développement de fibrose auriculaire.[182] Bien que les fibroblastes ne soient pas des cellules excitables, ils possèdent des canaux ioniques à leur surface membranaire. Ceci permet aux fibroblastes d'avoir un potentiel de repos membranaire plus dépolarisé que les cardiomyocytes.[212] Ainsi, en se liant aux myocytes via les Cx,[213] ils peuvent perturber l'activité électrique normale des myocytes, soit en ralentissant la conduction, en dépolarisant le potentiel de repos membranaire des myocytes, en affectant la durée du potentiel d'action ou en induisant une post-dépolarisation retardée.[108, 214] Les dépolarisations spontanées favorisent l'apparition de foyers d'activité ectopique. Elles ralentissent la conduction cardiaque et peuvent diminuer la durée du potentiel d'action entraînant l'augmentation de risques d'induction et de maintien de la réentrée.[215]

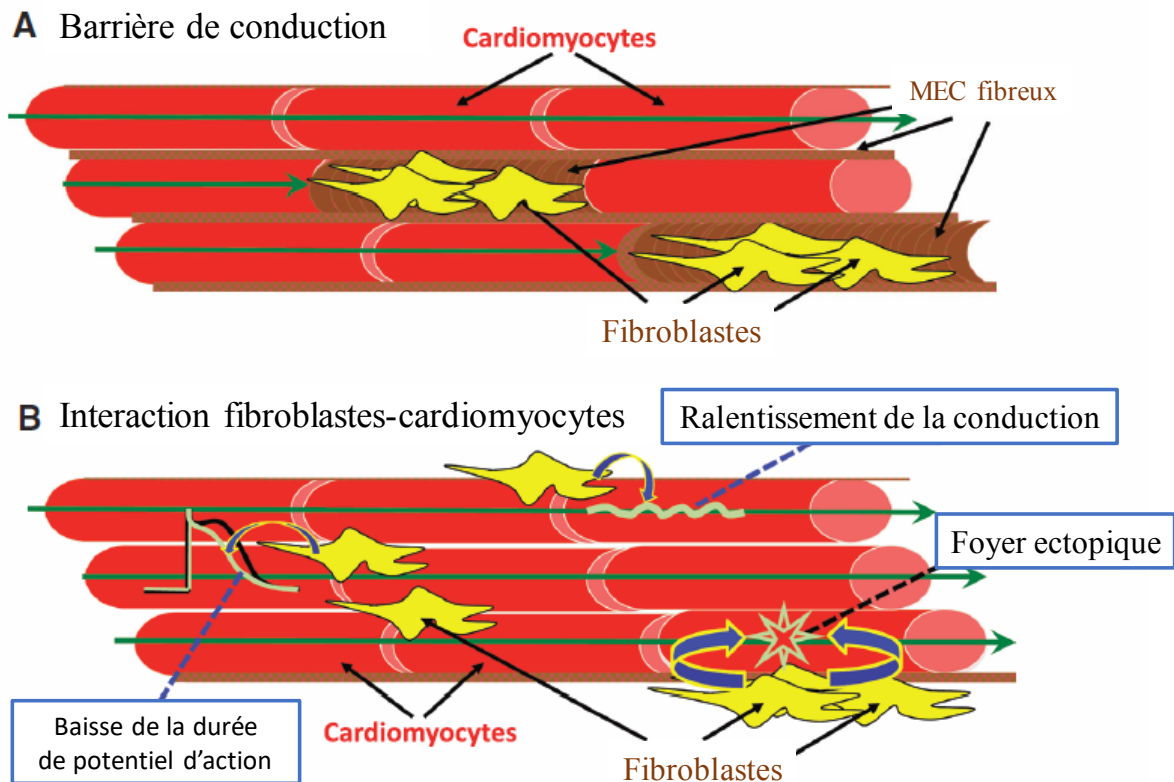


Figure 11. Interaction entre les fibroblastes et les cardiomyocytes. Les fibroblastes jouent un rôle majeur dans l'apparition de foyer ectopiques ainsi que dans la réentrée. Leur interaction directe avec les cardiomyocytes cause un ralentissement et une perturbation de la conduction cardiaque. MEC : matrice extracellulaire (Figure tirée de [215]).

L'augmentation de la taille des oreillettes est un important facteur dans la susceptibilité à la FA.[216, 217] Outre l'exercice physique d'endurance, les changements dans l'ultrastructure peuvent contribuer à la dilatation auriculaire.[218] L'augmentation de la masse auriculaire est un mécanisme important dans le maintien des multiples circuits de réentrée. Par exemple, une dilatation plus importante des oreillettes peut refléter un plus grand étirement auriculaire, lequel est impliqué dans le remodelage auriculaire en lien avec les phénomènes pro-arythmiques,[219] telle qu'une diminution de la vitesse de conduction [220] et d'un raccourcissement de la période réfractaire.[221-223] Ravelli a démontré que l'augmentation de la pression auriculaire dans des cœurs de lapins causait une diminution de la durée du potentiel d'action et de la période

réfractaire effective et favorisait l'augmentation de la susceptibilité à la FA; puis ces changements disparaissaient aussitôt que la pression dans les oreillettes était relâchée.[221]

En somme, le remodelage électrophysiologique est un processus rapide qui ne prend qu'un à trois jours à s'installer et dont les épisodes de FA durent entre quelques minutes et quelques jours. À l'inverse, le remodelage structurel est un changement à plus long terme, qui nécessite quelques semaines à s'établir créant un substrat anatomique permettant aux épisodes de FA de devenir persistants ou permanents.[224]

1.3.3 – Le remodelage contractile

Tel que mentionné précédemment, durant un potentiel d'action auriculaire, le Ca^{2+} entre dans la cellule via les canaux Ca^{2+} de type-L. Cette entrée de Ca^{2+} déclenche un mécanisme de « Ca^{2+} -induced Ca^{2+} -release ». Ainsi, l'augmentation de la concentration de Ca^{2+} intracellulaire via l'entrée de Ca^{2+} par les canaux Ca^{2+} de type-L déclenche une relâche plus importante de Ca^{2+} du réticulum sarcoplasmique (RS) via les récepteurs à la ryanodine (RyR2). Ces mécanismes sont responsables de la contraction auriculaire. Suite à cette contraction, le Ca^{2+} cytosolique est transféré vers le RS par la pompe Ca^{2+} -ATPase située sur la paroi du RS (SERCA2a), qui est sous le contrôle de la phosphorylation du phospholamban (PLB). Le PLB agit en tant que contrôle négatif sur SERCA2a et inhibe l'activité de ce dernier; ainsi, SERCA2a devient actif seulement lorsque PLB est phosphorylé. Simultanément, le Ca^{2+} est éliminé du myocyte via l'échangeur $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ (NCX). Il existe deux autres mécanismes responsables de la sortie du Ca^{2+} , soit la pompe Ca^{2+} -ATPase et le pore Ca^{2+} mitochondrial. Par contre, chez la souris, leur contribution est minime (1%) comparativement à SERCA2a (90%) et NCX (9%)[225]. La Figure 12 résume les processus contrôlant l'homéostasie calcique durant la contraction et relaxation auriculaire. [226] Une importante différence existe au niveau de l'extrusion du Ca^{2+} cytosolique entre les humains et la souris. En effet, chez les humains, SERCA2a représente 75% de la sortie du Ca^{2+} du cytosol tandis que NCX est responsable d'environ 25%, comparativement à 90% et 9%, respectivement chez la souris. Par ailleurs, en présence de certaines conditions pathologiques cardiaques telle que l'insuffisance cardiaque, il a été démontré que l'expression et l'activité de NCX étaient augmentées tandis que celles de

SERCA2a étaient diminuées. Ainsi, il semble que NCX pourrait posséder un rôle plus important en conditions pathologiques. [227-230]

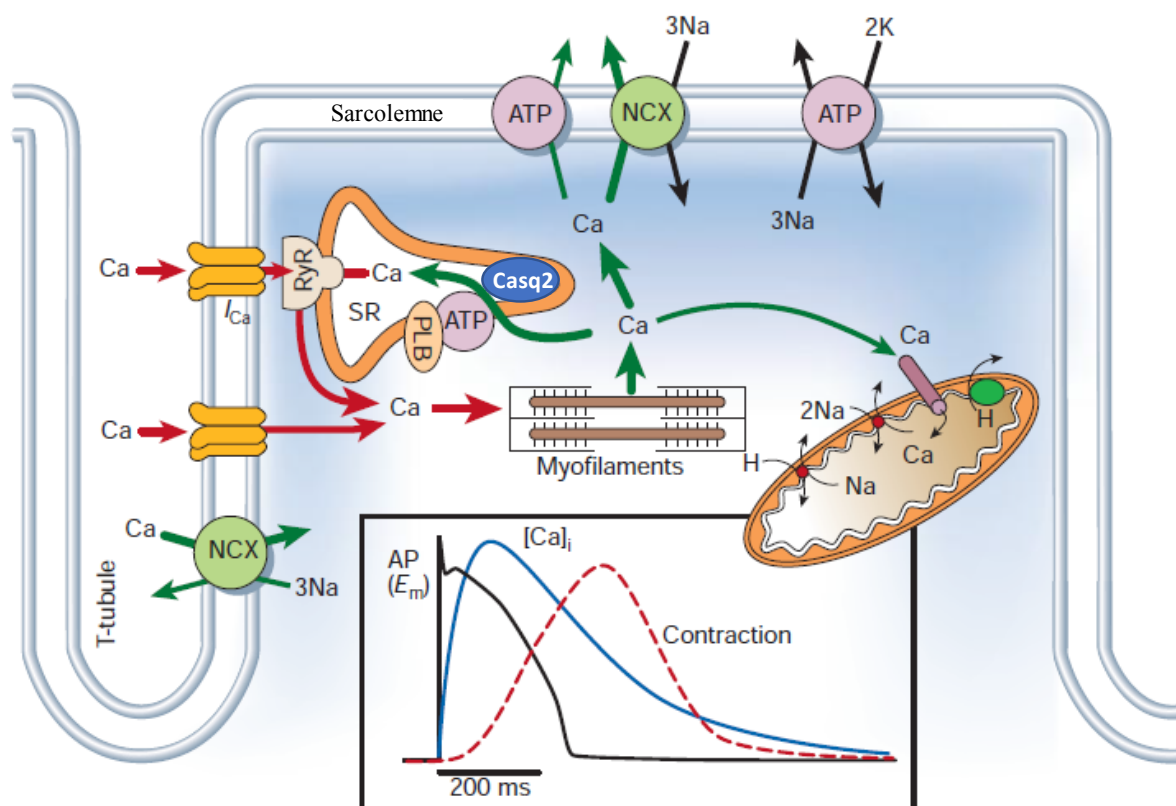


Figure 12. Représentation du système de l'homéostasie calcique. L'entrée de Ca^{2+} vers le cytosol via les canaux Ca^{2+} de type-L (I_{CaL}) et les récepteurs à la ryanodine (RyR2). SERCA permet la recapture du Ca^{2+} cytosolique suite à la phosphorylation du phospholamban (PLB). Les échangeurs NCX sortent un ion Ca^{2+} en échange de l'entrée de trois ions Na^{+} . On peut également voir les deux autres mécanismes impliqués dans la sortie du Ca^{2+} du cytosol, soit le pore calcique mitochondrial et la pompe Ca^{2+} -ATPase à la membrane du RS. L'encadré montre l'interaction chronologique entre le potentiel d'action (tracé noir), la concentration Ca^{2+} intracellulaire (bleu) et la contraction cellulaire (rouge) (Figure tirée de [226]).

Le remodelage contractile affecte les protéines impliquées dans le mécanisme d'homéostasie Ca^{2+} et favorise l'apparition de foyers d'activités ectopiques. En effet, outre le changement au niveau de la densité d' I_{CaL} , chez les patients atteints de FA, une baisse du transient calcique est observée et souvent une fuite spontanée de Ca^{2+} du RS via RyR2 ou une

diminution de l'efficacité de SERCA2a sont mis en cause.[231-234] Deux mécanismes peuvent être responsables de la fuite au niveau des RyR2. Tout d'abord, elle peut être due à une hyperphosphorylation de RyR2 par la protéine kinase A (PKA) ou la protéine kinase II dépendante du Ca^{2+} /calmoduline (CaMKII).[235-237] Deuxièmement, elle peut être causée par une augmentation de la concentration Ca^{2+} au niveau du RS suite à une hyperphosphorylation du PLB qui augmente la recapture du Ca^{2+} par SERCA2a.[238] Ainsi, plusieurs études ont démontré que la phosphorylation de RyR2 par CaMKII est augmentée chez les patients atteints de FA, provoquant une plus grande fuite de Ca^{2+} du RS.[236, 239] De plus, la calséquestrine (Casq2), une protéine impliquée dans la liaison calcique au niveau du RS, joue un rôle dans le déclenchement de la FA. Cette protéine permet de maintenir le Ca^{2+} dans le RS lors de la relâche calcique par les RyR2. Ainsi, une réduction de Casq2 peut causer une plus grande sortie de Ca^{2+} vers le cytosol ou des fuites calciques par RyR2. En effet, dans un modèle de souris Casq2-KO, Faggioni *et al.* ont démontré l'apparition de post-dépolarisations tardives entraînant des événements de FA.[240] Par ailleurs, Dobrev a montré un mécanisme compensatoire diminuant la concentration de Ca^{2+} cytosolique, où une augmentation de la phosphorylation de PLB permet d'augmenter la recapture du Ca^{2+} cytosolique. Par contre, cela entraînait une plus grande fuite de Ca^{2+} du RS.[241, 242] Inversement, il a été démontré qu'une diminution de la phosphorylation de PLB cause une recapture inefficace du Ca^{2+} par SERCA2a, maintenant ainsi une concentration Ca^{2+} cytosolique élevée.[238] En somme, toute variation au niveau de l'homéostasie calcique provoquant une perte de la balance de la concentration calcique cytosolique peut causer des événements de post-dépolarisation retardées[76] et les études pointent vers une surcharge calcique auriculaire suite à l'augmentation de la fréquence contractile.[243] Ainsi, cette surcharge de Ca^{2+} cytosolique cause également l'activation de NCX entraînant l'entrée de trois ions de Na^+ . Cette entrée provoque à son tour une dépolarisation membranaire et lorsque le seuil d'activation des canaux Na^+ dépendant du voltage est atteint, elle déclenche une post-dépolarisation retardée.[77, 108, 244] De ce fait, l'utilisation de thapsigargine et de ryanodine pour inhiber respectivement SERCA2a et RyR2 ont démontré une réduction d'épisodes de FA.[76, 108, 245] Par contre, plusieurs études se contredisent concernant les densités d' I_{CaL} . Certaines stipulent que toute cette augmentation de Ca^{2+} cytosolique entraîne une diminution d' I_{CaL} dans le but de protéger le cœur d'une cytotoxicité calcique; mais ce changement au niveau d' I_{CaL} cause une diminution de la durée du potentiel

d'action favorisant ainsi la réentrée et le maintien de la FA.[246] Par ailleurs, d'autres études démontrent une augmentation de la densité d' I_{CaL} chez les patients souffrant de FA menant vers une plus grande surcharge de Ca^{2+} cytosolique qui déclenche davantage les processus de remodelage cardiaque impliqué dans la FA.[242, 243]

Tout comme le remodelage électrophysiologique qui implique une perturbation au niveau de la période réfractaire effective et de la durée du potentiel d'action, le remodelage contractile est un mécanisme pro-arythmique. Le dérèglement des protéines impliquées dans l'homéostasie calcique mène à l'apparition de post-dépolarisations précoces ou retardées et d'activités ectopiques.

1.3.4 – Le remodelage neuronal

Le cœur est innervé par le système nerveux autonome (SNA) sympathique et parasympathique. Les cellules ganglionnaires des nerfs du SNA sont positionnées soit à l'extérieur (extrinsèque) ou à l'intérieur (intrinsèque) du cœur. Elles innervent le NSA, le NAV, le système de conduction et les myocytes du cœur. Ces deux systèmes jouent un rôle important dans la fonction cardiaque et dans l'arythmogénicité.[214, 247-249] En effet, le système neuronal contrôle la stabilité électrique cardiaque et une activation hétérogène de ce système prédispose le cœur à des arythmies.[250-254]

Les nerfs sympathiques relâchent la norépinéphrine, un neurotransmetteur, qui se lie spécifiquement aux récepteurs pour produire les réponses physiologiques observées. Dans le cœur, on retrouve les récepteurs adrénergiques α et β_2 , mais le plus important est le récepteur β_1 adrénergique. Lorsque ces récepteurs sont activés, la cascade adrénergique stimule la conversion d'adénosine triphosphate (ATP) en adénosine monophosphate cyclique (AMPC) via la liaison de la protéine G_s à l'adénylate cyclase (AC). Puis, l'AMPC active, à son tour, la PKA qui s'occupe de phosphoryler plusieurs protéines membranaires et intracellulaires cardiaques. De ce fait, l'activation des récepteurs α et β par leur ligand entraîne des réponses comme une augmentation de la fréquence cardiaque (chronotropie), de la vitesse de conduction (dromotropie), de la force de contraction (inotropie) et de la relaxation des myocytes (lusitropie). De plus, une stimulation adrénergique affecte, entre autres, I_{CaL} , I_{Ks} , I_{K1} , RyR2 et PLB.[255] Donc, les entraînements d'exercice physique d'endurance ou à haute intensité peuvent moduler

ces courants et/ou protéines et favoriser l'apparition de la FA due soit à un changement de la durée du potentiel d'action ou à la présence de battement ectopique.[197] Contrairement à la stimulation adrénergique (sympathique), la stimulation vagale (parasympathique) résulte en une libération d'acétylcholine (ACh) qui affecte l'activité d' $I_{K_{ACh}}$ [256] chez les patients n'ayant aucune maladie structurelle cardiaque.[257] En effet, contrairement à la stimulation adrénergique qui entraîne une activation de la protéine G_s , l'effet cholinergique résulte d'une activation des canaux Kir3.1 et Kir3.4 ($I_{K_{ACh}}$) via leur activation par la protéine $G\beta\gamma$. Outre son effet sur $I_{K_{ACh}}$, l'ACh, lorsque liée à son récepteur, va inhiber la conversion de l'ATP en AMPc par l'AC, car elle va se lier à la protéine G_i et ainsi diminuer la synthèse de PKA (Figure 13).

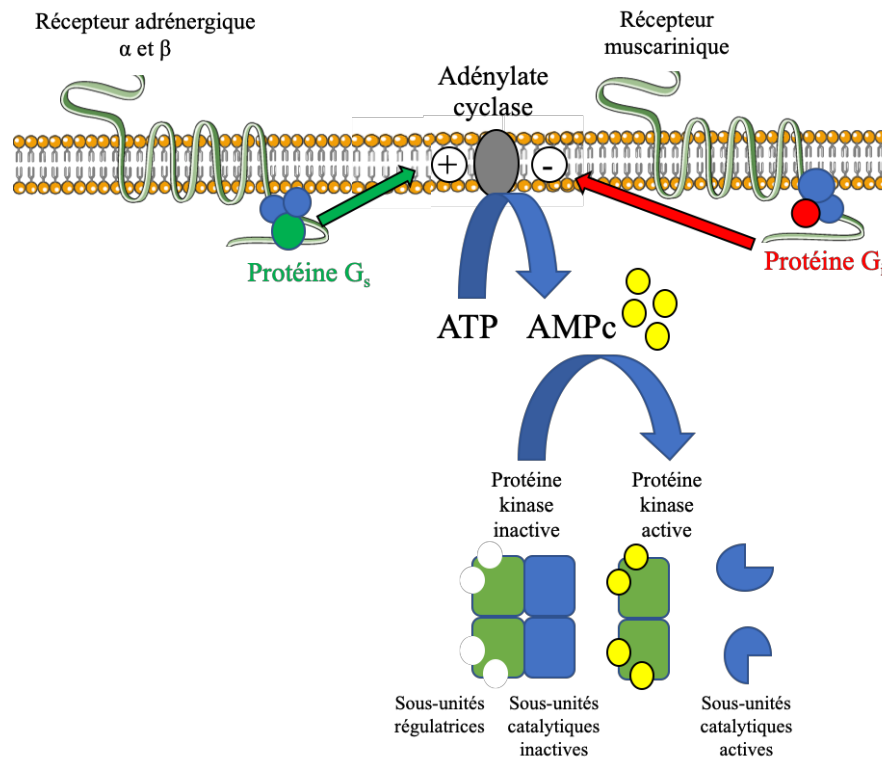


Figure 13. Rôle des récepteurs adrénergiques α et β et muscariniques sur la synthèse des protéines kinases impliquées dans la régulation cardiaque. ATP : adénosine triphosphate. AMPc : adénosine monophosphate cyclique.

Ainsi, une stimulation adrénergique α réduit I_{K1} via la protéine kinase C. Cette dernière cause une diminution de la fréquence et de la durée d'ouverture du canal [258-261], entraînant un potentiel de repos membranaire plus dépolarisé. Tandis qu'une stimulation adrénergique β

augmente l'activité d' I_{Ks} et raccourcit la durée du potentiel d'action et de la période réfractaire menant vers des épisodes de FA dues au phénomène de réentrées.[258] Par ailleurs, PKA augmente la densité d' I_{CaL} causant une prolongation de la durée du potentiel d'action. Cet effet prolongeant la phase plateau augmente le risque de post-dépolarisations précoces. En effet, la prolongation du plateau permet aux canaux Ca^{2+} de revenir à leur état activé. Entre autres, la PKA augmente la phosphorylation de PLB et de RyR2. En stimulant l'activité de ces derniers, le SNA sympathique augmente l'apparition d'activités ectopiques dues à une surcharge de Ca^{2+} au niveau du RS (augmentation de la recapture du Ca^{2+} par SERCA2a suite à la phosphorylation de PLB) ainsi que d'une augmentation de la fuite de Ca^{2+} du RS via RyR2. L'augmentation de Ca^{2+} cytosolique qui s'en suit entraîne une activité accrue de NCX1 (sortie de Ca^{2+} versus l'entrée de Na^+) causant ainsi des post-dépolarisation retardées.[262] Ces post-dépolarisations retardées sont déclenchées par l'entrée massive de Na^+ qui permet à la membrane sarcoplasmique d'atteindre son seuil de déclenchement de potentiel d'action. Également, une surstimulation sympathique a été observée chez les patients atteints de FA persistante et ceux sous agents inotropes β -adrénergiques (exemple : Dobutamine) ont une plus grande susceptibilité à la FA.[91, 202, 263, 264] Une stimulation β -adrénergique active la protéine phosphatase calcineurine et cette dernière déphosphoryle les facteurs de transcription NFAT induisant l'expression de gènes hypertrophiques et profibrotiques. Ainsi, le SNA sympathique favorise autant un remodelage neuronal que structurel.[256, 265] Ces éléments impliqués dans le remodelage neuronal sont présentés dans la Figure 14.

Une étude effectuée par Deneke *et al.* a démontré que les patients atteints de FA persistante avaient un changement de la balance autonome, où on apercevait une prédominance pour les nerfs adrénérergiques par rapport aux nerfs cholinergiques. En effet, ils ont noté aucune différence de densité totale des nerfs (somme des nerfs adrénérergiques et cholinergiques) entre les patients atteints de FA et les personnes en rythme sinusal. Mais, ils ont rapporté que le groupe avec FA présentait une densité plus élevée de nerfs adrénérergiques et une baisse de densité des nerfs cholinergiques.[266] Ainsi, pour maintenir une activité physiologique normale en présence d'une hausse du rythme cardiaque, la réponse systémique compensatoire nécessite d'accroître la relâche d'ACh.[266] Ainsi, le SNA parasympathique active I_{KACh} et cause une plus grande sortie de K^+ durant la repolarisation, résultant en une

diminution de la durée du potentiel d'action. Une stimulation vagale raccourcit donc également la période réfractaire effective et peut promouvoir des phénomènes de réentrées ou être responsable de l'apparition de foyers ectopiques.[267, 268] En effet, Sharifov *et al.* ont rapporté qu'une infusion d'isoprotérénol (stimulation adrénergique β) et d'adrénaline (stimulation adrénergique α et β) induisait des épisodes de FA chez 21% des chiens étudiés, tandis qu'une infusion d'ACh (vagale) produisait de la FA chez 100% des chiens.[269]

Bref, le SNA facilite les événements de post-dépolarisations précoces et d'activité ectopique en augmentant la libération intracellulaire de Ca^{2+} (effet sympathique) ou en raccourcissant la période réfractaire (effet parasympathique).

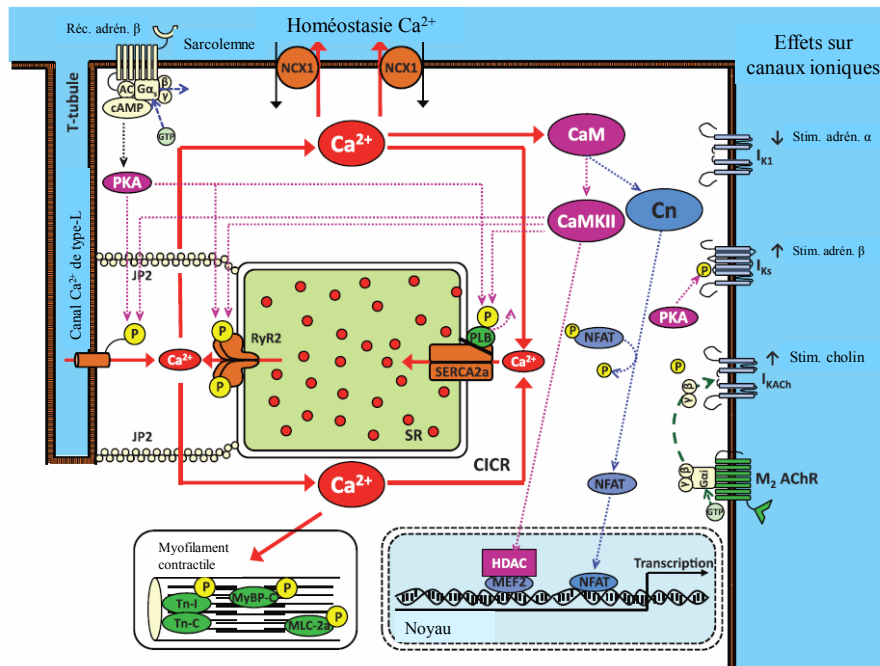


Figure 14. Implication des récepteurs cholinergiques et α - et β -adrénergiques dans le cardiomyocyte. L'activation de ces récepteurs joue un rôle sur la phosphorylation des différents canaux ioniques et les protéines impliquées dans le système d'homéostasie calcique. CaM : Calmoduline. CaMKII : protéine kinase II dépendante du Ca^{2+} /calmoduline. NFAT : nuclear factor of activated T cells. PKA : protéine kinase A. CICR : « Ca^{2+} -induced Ca^{2+} -release ». Cn: calcineurine SR : réticulum sarcoplasmique. RyR2: récepteur ryanodine 2. NCK1 : échangeur Na^+/Ca^{2+} . SERCA2a : la pompe Ca^{2+} -ATPase située sur le RS PLB : phospholamban. Tn : troponine. MLC : chaîne lourde de la myosine. JP2 : junctophiline 2 (Figure modifiée de [256]).

En résumé, tel que présenté sur la Figure 15, on constate que tous les mécanismes impliqués dans les quatre formes de remodelage (électrophysiologique, structurel, contractile et neuronal) sont inter-reliés. Certains de ces mécanismes causent l'initiation de la FA via plusieurs phénomènes, tels que la réentrée et les foyers d'activités ectopiques, tandis que d'autres sont impliqués dans le maintien des épisodes de FA et jouent un rôle à plus long terme.

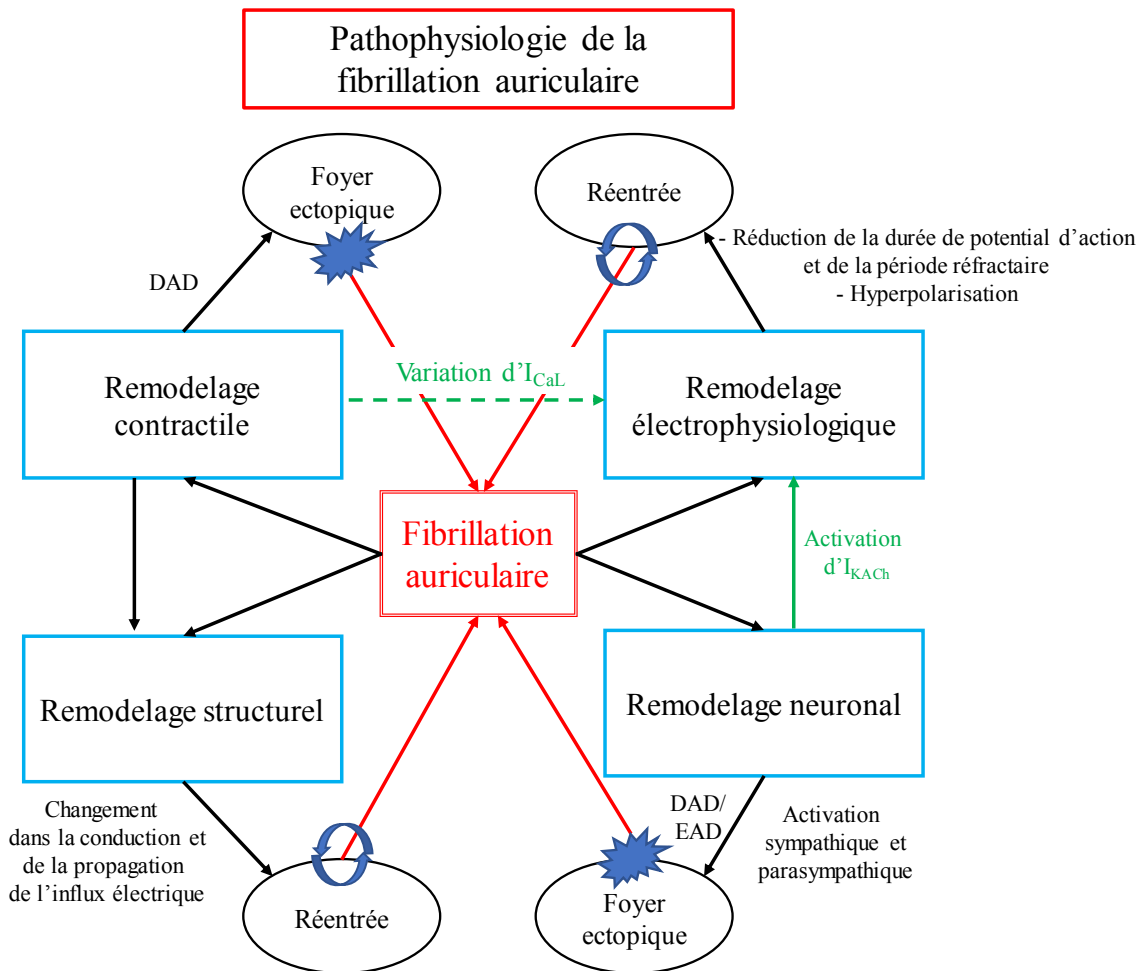


Figure 15. Inter-relation des quatre formes de remodelage (électrophysiologique, structurel, contractile et neuronal) retrouvées chez les patients atteints de FA. Souvent la FA est le résultat d'une combinaison de plusieurs types de remodelage (Figure adaptée de [215].)

1.4 – Le système rénine-angiotensine et la fibrillation auriculaire

Le système rénine-angiotensine (SRA) joue un rôle primordial dans la régulation des processus physiologiques au niveau du système cardiovasculaire[270] et son activité accrue est souvent associée à une augmentation du risque de maladies cardiovasculaires, incluant les arythmies.[271] Les effets néfastes de l'angiotensine (Ang) II sont médiés par une suractivation du récepteur de type 1 de l'Ang II (AT1R). La Figure 16 montre la cascade de la synthèse de l'Ang II et les effets cardiovasculaires reliés à l'activation des AT1R.

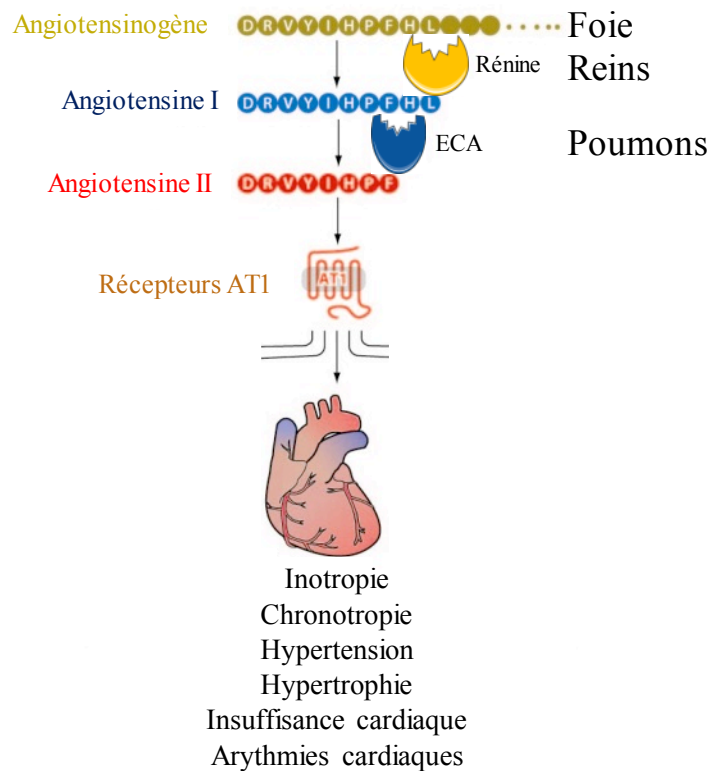


Figure 16. Effets de l'angiotensine II et de l'activation de son récepteur de type 1 sur le système cardiaque. L'angiotensinogène est synthétisée dans le foie et, via la rénine produite par les cellules juxtaglomérulaires du rein et les enzymes de conversion de l'angiotensine (ECA) I produite dans les poumons, est transformée en angiotensine II (Figure modifiée de [272]).

Certaines évidences démontrent que le SRA est impliqué dans le remodelage structurel et électrophysiologique cardiaque pouvant initier et maintenir la FA.[210] En effet, tel que discuté

auparavant, les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (IECA) diminuent partiellement la fibrose cardiaque et les risques de FA. Des études *in vivo* ont démontré les effets positifs des antagonistes des récepteurs de l'Ang II et des IECA; en effet, ces médicaments préviennent la déphosphorylation des Cx et entraînent une réduction d'événements arythmiques et de mort subite.[273] De plus, des études cliniques ont montré que les IECA et les antagonistes des récepteurs de l'angiotensine réduisent les risques de développer de la FA chez les patients vivant avec une insuffisance cardiaque.[183] En lien avec ces études, des observations cliniques ont démontré une augmentation d'AT1R et du niveau d'enzyme de conversion de l'angiotensine dans les oreillettes gauches des patients atteints de FA.[274, 275] Par ailleurs, dans un modèle canin avec une insuffisance cardiaque congestive, il a été démontré qu'en plus de diminuer les risques de FA, les IECA réduisent la fibrose tissulaire, démontrant que les IECA préviennent également le remodelage structurel observé lors d'une surstimulation du SRA, indépendamment de leur effet hémodynamique vasodilatateur.[276, 277]

La cascade de signalisation des AT1R passe par la liaison de l'Ang II aux récepteurs. Cette liaison active ainsi les protéines G, G_i et G_q , impliquées dans le développement de l'hypertrophie cardiaque. [278, 279] Puis, la seconde étape de signalisation est due à l'association entre les récepteurs et la β -arrestine et ce complexe est impliqué dans le développement du remodelage électrophysiologique causant des effets indépendants des protéines G.[280-283] La Figure 17 indique que le remodelage cardiaque observé dépend des voies de signalisation. L'activation de la protéine $G\alpha$ entraîne une augmentation du Ca^{2+} cytosolique, favorisant l'hypertrophie et la sensibilité au Ca^{2+} . Tandis que la voie de la β -arrestine augmente l'expression des protéines impliquées dans la contractilité cardiaque (telle que la myosine) tout en diminuant la coopération entre le Ca^{2+} et les myofilaments.

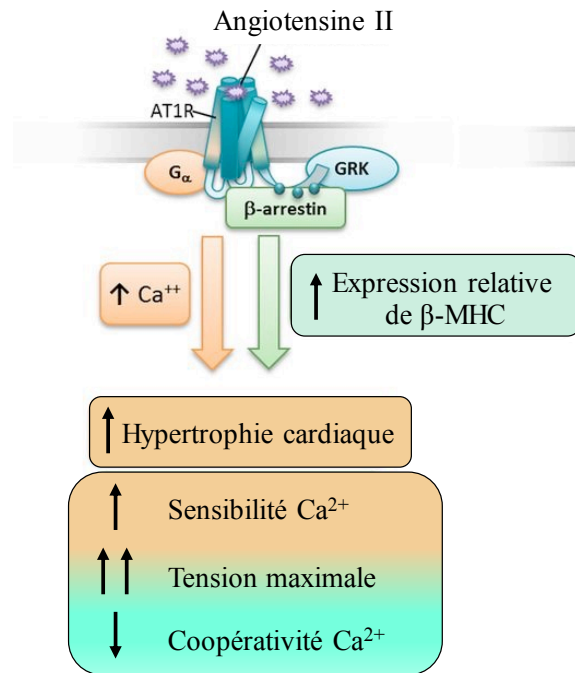


Figure 17. Les deux voies de signalisation des récepteurs de type 1 de l'angiotensine II (AT1R) au niveau cardiaque. Dans un premier temps, suite à la liaison de l'Ang II au récepteur, elle peut activer la protéine G_{α} qui va augmenter le Ca^{2+} cytosolique et causer une augmentation de l'hypertrophie cardiaque. Puis, dans un deuxième temps, l'activation de la β -arrestine va moduler les différents facteurs impliqués dans l'homéostasie calcique résultant en une augmentation de l'inotropie cardiaque. GRK : G protein-coupled receptor kinase. [284]

Plusieurs études effectuées sur des modèles animaux supportent également l'implication de l'Ang II au niveau du remodelage cardiaque. En effet, Domenighetti a établi qu'une surexpression d'Ang II spécifiquement au niveau cardiaque entraînait une hypertrophie ventriculaire, une diminution de la contractilité et une augmentation de l'incidence d'arythmie.[285] Entre autres, une activation d'AT1R diminue l'activité de la pompe Na-K-ATPase [286] et de la densité du courant I_{to} [282, 287]. Certaines études rapportent une augmentation de la densité du courant I_{CaL} lorsque les cellules isolées sont perfusées avec de l'Ang II.[288, 289] Cette différence entre les résultats de la littérature et ceux rapportés par notre laboratoire[290] peut possiblement être expliquée par une réponse cellulaire différente entre une exposition aigue à l'Ang II et une surexpression d'AT1R chronique, qui peut potentiellement

être un effet systémique. Par ailleurs, une étude démontre que la surexpression de l'enzyme de conversion de l'angiotensine produisait une dilatation auriculaire et que ces souris présentaient une importante baisse de Cx40 et Cx43 totales et phosphorylées, menant vers plus d'événements arythmiques et de morts subites. [17, 291] Précédemment, dans notre laboratoire, nous avons démontré, chez les souris surexprimant AT1R spécifiquement au niveau cardiaque, que les courants Na^+ , K^+ et Ca^{2+} de type-L ventriculaires étaient réduits, indépendamment du remodelage structurel.[290, 292, 293] Le SRA peut altérer la morphologie et les propriétés électrophysiologiques cardiaques menant vers le développement et la progression de diverses maladies cardiovasculaires. Il est donc possible que les changements électrophysiologiques ventriculaires observés soient répliqués au niveau des oreillettes ce qui peut expliquer la plus haute prévalence d'événements pro-arythmiques auriculaires lorsque l'activité du SRA est augmentée.

Il est connu que l'AT1R possède des effets profibrotiques via l'activation du complexe GTPase et de la protéine Ras augmentant la phosphorylation de MAPK (« *mitogen-activated protein kinase* ») connue pour son rôle dans la fibrose.[294] De plus, l'Ang peut promouvoir la FA via l'oxydation de CaMKII et la phosphorylation de Ryr2 par la CaMKII.[295] En lien avec le remodelage calcique associé à la FA, l'Ang II cause une augmentation de la relâche de Ca^{2+} du RS suite à la stimulation des AT1R. Cette stimulation active la phospholipase C et la protéine kinase C (PKC) impliquées dans l'homéostasie calcique.[295] Basée sur ces observations, la première étude de cette thèse propose d'étudier le lien possible entre la surexpression d'AT1R, les courants ioniques auriculaires et la susceptibilité à la FA.

1.5 – Différences mâles/femelles

1.5.1 – Arythmies cardiaques

L'incidence et la sévérité des arythmies cardiaques diffèrent considérablement entre les hommes et les femmes et les différences électrophysiologiques cardiaques observées entre les sexes sont majoritairement dues aux hormones sexuelles. En effet, plusieurs études animales ont rapporté, par exemple, que chez le chien et la souris I_{to} , I_{Kur} et I_{K1} sont plus élevés chez le mâle versus la femelle et à l'inverse, I_{CaL} est plus faible chez le chien mâle.[296-299] Certaines de

ces observations ont été rapportées chez l'humain.[300] Par ailleurs, les hommes possèdent une fréquence cardiaque plus lente que les femmes et leur intervalle QTc (représentant la repolarisation ventriculaire ajustée pour la fréquence cardiaque) sur l'ECG est plus court.[301-305] De ce fait, les femmes sont plus à risque d'événements de torsade de pointes et du syndrome de long QT (SLQT) 2 induits par la prise de médicaments; ces arythmies cardiaques sont possiblement dues à une diminution de la réserve potassique et à une prolongation de la durée du potentiel d'action.[306, 307] La torsade de pointe est une tachycardie ventriculaire polymorphes pouvant mener à de la fibrillation ventriculaire et à la mort subite. Toutefois, sachant que la mort subite cardiaque possède plusieurs facteurs de risque au-delà de la génétique, elle est deux fois plus élevée chez les hommes que les femmes et touche entre 200 000 et 450 000 personnes par années en Amérique du Nord.[308-310] Par ailleurs, il a été démontré que les jeunes garçons sont trois à quatre fois plus à risque d'événements cardiaques, tels que le SLQT1, que les jeunes filles et cette tendance est perdue après la puberté.[311-314] Cette plus haute prévalence de SLQT1 chez les jeunes garçons est sans doute due au fait qu'ils sont physiquement plus actifs et possèdent une plus faible expression de $K_{V7.1}$ (I_{Ks}). En effet, durant l'exercice (ou stimulation adrénergique), les courants I_{Ks} ($K_{V7.1}$) et I_{CaL} ($Ca_v1.2$) sont activés, toutefois cette faible expression de $K_{V7.1}$ et augmentation d' I_{CaL} causent une prolongation de la durée du potentiel d'action prolongeant ainsi la repolarisation chez les jeunes garçons.[315-319] En lien avec l'influence des androgènes, il a été démontré que les athlètes prenant des stéroïdes anabolisants possèdent un intervalle QT raccourci.[318]

Le syndrome de Brugada (SBr) affecte plus fréquemment et sévèrement les hommes que les femmes. Le SBr est une maladie cardiaque génétique (mutation au niveau du canal Na^+ , SCN5A) caractérisé par un ECG anormal et une augmentation du risque de mort subite.[320] Similairement, le syndrome de repolarisation précoce, correspondant à une élévation du segment ST (représentant l'intervalle entre la dépolarisation et repolarisation ventriculaire) de l'ECG, entraîne plus de mort subite cardiaque chez les hommes comparativement aux femmes. Cette forme d'arythmie serait due à une mutation au niveau du canal KCNJ8, Kir6.1.[321] Par ailleurs, les hommes sont plus à risque de fibrillation ventriculaire idiopathique. [302, 322, 323]

Tel que mentionné précédemment, les femmes possèdent un rythme cardiaque plus rapide que les hommes, correspondant à une automaticité sinusale accrue. De plus, il a été rapporté par

MacFarlane que l'intervalle PR, qui correspond au temps de conduction auriculo-ventriculaire, est plus élevé chez les hommes.[324] Ainsi, au niveau supraventriculaire, comparativement aux femmes, les hommes sont plus susceptibles d'être atteint d'un bloc auriculo-ventriculaire, mais moins à risque d'être touché par le syndrome de « *sick sinus* » (une arythmie qui touche le NSA pouvant causer des tachycardies ou bradycardies ou un mélange des deux).[302] En outre, les femmes sont plus à risque de tachycardies supraventriculaires, telles que la tachycardie par réentrée nodale auriculo-ventriculaire (TRNAV) qui est deux fois plus présente chez les femmes que les hommes.[325] La TRNAV est la forme la plus fréquente de tachycardie supraventriculaire par réentrée. Tandis que les tachycardies par réentrées impliquant une voie accessoire dans la conduction électrique entre les oreillettes et les ventricules, comme par exemple le syndrome de Wolff-Parkinson-White, sont plus fréquentes chez les hommes. [326]

Bien que le risque de complication liées à la FA, tels que les AVC, est plus élevé chez la femme, les risques de morts subites sont plus élevés chez l'homme.[327] Il a été rapporté que les hommes ont plus d'événements de fuite calcique au niveau du réticulum sarcoplasmique que les femmes et donc ont un ratio pro-arythmique plus élevé.[328] Sachant que les hommes âgés de moins de 65 ans sont deux fois plus affectés par la FA que les femmes (Figure 18) et que le taux de survie est similaire entre les hommes et les femmes de 65 ans et moins (Figure 19), il est nécessaire d'étudier les causes moléculaires et cellulaires de la différence liée au sexe lors de la FA afin de comprendre les causes de cette plus haute prévalence chez les hommes. [329, 330]

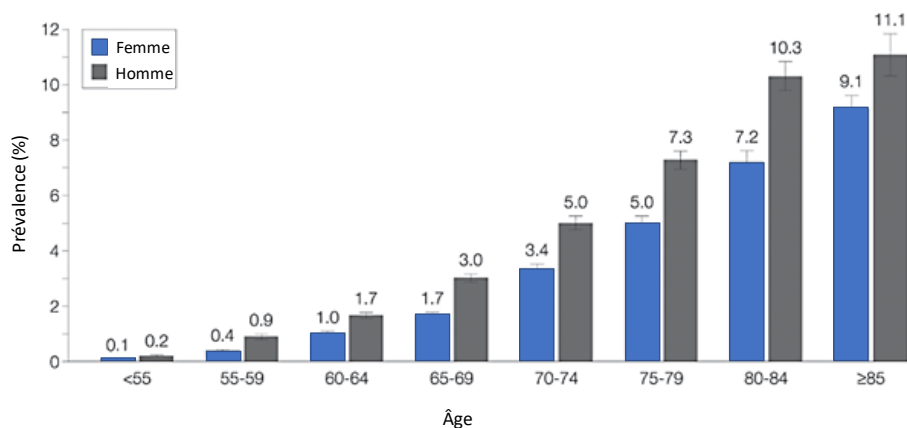


Figure 18. Prévalence de la FA chez les hommes et les femmes. Pour chaque décennie d'âge, le taux de prévalence est doublé autant chez les hommes que chez les femmes.

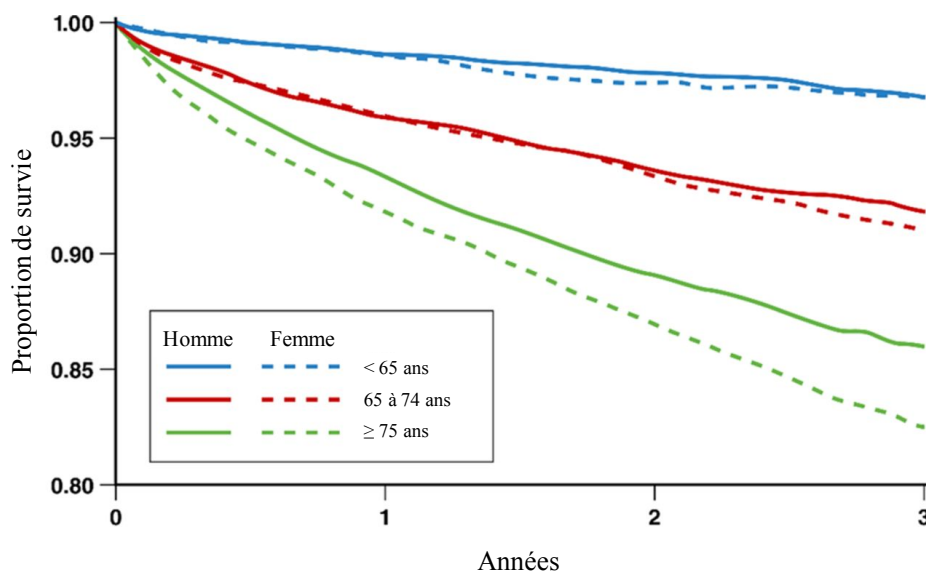


Figure 19. Taux de survie entre les hommes et les femmes atteints de FA aux différents âges (Figure modifiée de [305]).

1.5.2 – Influence des hormones sexuelles sur l'électrophysiologie

Comme on peut le constater, la prévalence de plusieurs arythmies cardiaques diffère entre les hommes et les femmes. Des récepteurs aux hormones stéroïdiennes sexuelles mâles (androgènes) et femelles (œstrogènes et progestérones) sont présents au niveau du cœur et peuvent donc influencer les courants ioniques cardiaques.[332] Au sein du laboratoire, nous avons étudié le rôle des androgènes sur la repolarisation ventriculaire et démontré que les souris femelles avaient une durée de potentiel d'action prolongée comparativement aux mâles; ceci était associée à un niveau plus faible de $K_{V1.5}$ et de son courant K^+ correspondant, I_{Kur} , chez les femelles.[333] Par la suite, l'équipe du Dre Fiset a précisé l'effet des androgènes sur les courants K^+ en utilisant un modèle de souris orchietomisée (ORC). Brouillette *et al.* ont ainsi démontré un prolongement de l'intervalle QTc chez les souris ORC comparativement aux contrôles, concordant avec une prolongation de la durée du potentiel d'action ventriculaire et une diminution de $K_{V1.5}$. [297] Pour confirmer que les effets observés étaient bien dus aux androgènes, les souris ORC ont reçu des implants sous-cutanés de dihydrotestostérone (DHT) pendant 30 jours, lesquels ont renversé les valeurs de densité d' I_{Kur} et d'expression de $K_{V1.5}$ observées chez les souris ORC. Cette étude démontre l'implication des androgènes sur le

pendant 30 jours, lesquels ont renversé les valeurs de densité d' I_{Kur} et d'expression de $K_{V1.5}$ observées chez les souris ORC. Cette étude démontre l'implication des androgènes sur le courant I_{Kur} et $K_{V1.5}$ (courant repolarisant le plus important au niveau auriculaire chez l'humain) et a également servi à démontrer que les concentrations plasmatiques d'androgènes varient entre les lignées de souris. En effet, cette étude par Brouillette *et al.* a permis de déterminer la lignée de souris à utiliser pour les expériences sur les différences mâles-femelles. Comme on peut le constater à partir de la Figure 20, les souris C57BL/6 mâles présentent une faible concentration plasmatique d'androgènes comparativement aux CD-1 et la différence de niveau d'androgènes entre les mâles et les femelles est également plus faible chez les C57BL/6; ceci suggère que pour les études de différences sexuelles liées aux hormones mâles, il est préférable d'utiliser la lignée de souris CD-1. [334] Similairement aux études de Brouillette *et al.*, l'équipe de Fulop a démontré qu'une ovariectomie ou une supplémentation en œstrogènes n'affectaient pas l'intervalle QT; mais que la présence de testostérone chez les chiennes ovariectomisées causaient un raccourcissement de l'intervalle QT, démontrant l'implication des androgènes.[296]

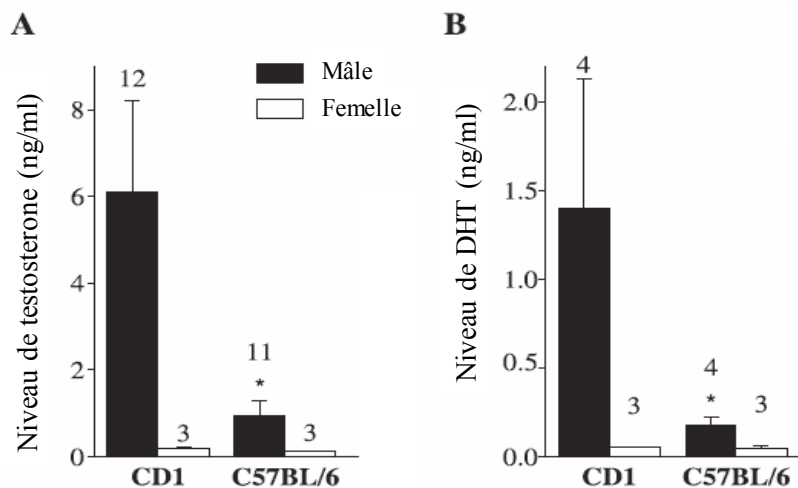


Figure 20. Niveau d'androgènes (testostérone et dihydrotestostérone) plasmatiques entre les souris mâles et femelles dans les lignées de souris utilisées dans cette thèse (Figure modifiée de [334]).

Notre laboratoire a également étudié le rôle des œstrogènes sur les courants ioniques K^+ ventriculaires. L'utilisation du 4-hydroxy-tamoxifène (4-OH-tamoxifène), un modulateur

antagoniste des ER. Ainsi, en utilisant le 4-OH-tamoxifène, une diminution des densités de courants K^+ ventriculaires, soit d' I_{to} , I_{Kur} et I_{K1} a été observée. Cette réduction est corrélée avec une diminution de l'expression d'ARNm des canaux ioniques, $Kv4.3$, $Kv1.5$ et $Kir2.1$, respectivement.[335] L'administration chronique de tamoxifène, qui agit comme un antagoniste des ER, renverse cette baisse de densité des courants K^+ impliqués dans la repolarisation cardiaque ventriculaire murine, confirmant l'implication des œstrogènes.[335] Les effets de l'œstrogène sont médiés via les $ER\alpha$; car en utilisant un modèle de souris privées des $ER\alpha$ ($ERKO\alpha$) et $ER\beta$ ($ERKO\beta$), nous avons observé qu'en présence d'œstrogènes, la densité de courant I_{to} est diminuée seulement chez les souris $ERKO\beta$. Nous avons donc montré que l'effet des œstrogènes sur I_{to} et $Kv4.3$ nécessite les $ER\alpha$. [336] Ces résultats ont été rapportés par d'autres groupes, ayant démontré que la prolongation de la période réfractaire effective par l'œstrogène est due à une inhibition des courants K^+ sortants.[337-340] Cette réduction de la réserve potassique ventriculaire durant la repolarisation pourrait être une des causes qui expliquent la plus grande prévalence des femmes aux torsades de pointes et au SLQT2. Par ailleurs, les androgènes auraient un effet inverse en réduisant la durée du potentiel d'action et augmentant la densité d' I_{Ks} et d' I_{to} , ce qui pourrait expliquer la plus grande prédisposition des hommes à la fibrillation ventriculaire et au syndrome de Brugada.

Les effets des œstrogènes au niveau ventriculaire ont été largement rapportés dans la littérature; par contre, leurs conséquences au niveau auriculaire demeurent encore peu explorées. Ainsi, il a été démontré expérimentalement que les post-dépolarisations retardées auriculaires sont plus fréquentes chez les hommes comparativement aux femmes et sont associées à une augmentation du courant Na^+ persistant, du transient Ca^{2+} et de fuite calcique du RS via les $RyR2$. [341] Les différences électrophysiologiques selon le sexe dans les différents modèles animaux sont résumées dans le Tableau 1 de notre article de revue sur le sujet (voir Annexe). [302]

Notre laboratoire a démontré que, chez les souris gestantes, l'augmentation du rythme cardiaque est due en partie à une augmentation de l'expression protéique de $HCN2$ menant à une densité de courant I_f plus élevée et une plus grande automaticité du nœud sinusal.[342] La grossesse étant associée à une augmentation de la concentration circulante d'œstrogènes et de

progestérones, ces changements dans les courants ioniques suggèrent l'implication de ces hormones.

Ainsi, les courants ioniques auriculaires sont affectés à la fois par les androgènes et les œstrogènes. Ces différences électrophysiologiques dépendantes du sexe peuvent expliquer l'apparition différentielle de certaines formes d'arythmies en clinique. Ainsi, le but du deuxième projet de cette thèse était d'étudier les effets moléculaires et cellulaires des androgènes afin d'expliquer la prévalence plus élevée de FA chez les hommes.

1.6 – Contextualisation

Le système rénine-angiotensine joue un rôle important dans la régulation du système cardiovasculaire. Il peut favoriser la progression de l'insuffisance cardiaque et la survenue d'arythmies cardiaques potentiellement malignes. Une modification d'une des composantes impliquées dans ce système augmente la susceptibilité arythmique. En effet, un des effets néfastes de l'angiotensine II au niveau cardiaque est causé par des modulations électrophysiologiques, lesquelles peuvent favoriser l'apparition d'arythmies cardiaques telle que la fibrillation auriculaire. Dans le cadre du premier projet de cette thèse, nous avons étudié le lien établi entre la fibrillation auriculaire et le système rénine-angiotensine.

Avec le développement des connaissances, nous remarquons l'existence d'importantes différences fonctionnelles au niveau cardiaque entre les hommes et les femmes. Ce constat a mené récemment à des efforts exigeant l'inclusion d'un plus grand nombre de femmes au sein d'études cliniques, puisque les données obtenues chez les hommes ne peuvent plus être simplement extrapolées aux femmes. Les arythmies cardiaques ne font pas exception à cette observation, d'autant plus que leur prévalence suit un différentiel du genre. Ainsi, la fibrillation auriculaire affecte deux fois plus d'hommes que de femmes, tout en étant un fardeau économique et médical important pour tous. Puisque les hormones sexuelles semblent être impliquées dans ces variations électrophysiologiques cardiaques, la deuxième étude de cette thèse a porté sur les différences au niveau du fonctionnement électrique cardiaque normal entre les hommes et les femmes pouvant expliquer une prévalence plus élevée à la fibrillation auriculaire chez les hommes.

1.7 – Hypothèse de travail

Hypothèse I : Notre hypothèse de travail pour le premier projet de cette thèse propose de faire le lien entre le système rénine-angiotensine et le développement de la fibrillation auriculaire. Nous émettons l'hypothèse qu'une surexpression des récepteurs de type 1 de l'angiotensine II peut promouvoir des changements électrophysiologiques et moléculaires qui mèneraient à une susceptibilité accrue au développement de la fibrillation auriculaire. Ainsi, nous soupçonnons que les canaux ioniques et les connexines auriculaires seront différemment exprimées entre les souris contrôles et les souris surexprimant le récepteur de type 1 de l'angiotensine II ce qui permettrait d'établir un lien entre le système rénine-angiotensine et la fibrillation auriculaire.

Hypothèse II : Les hommes sont deux fois plus susceptibles de développer de la fibrillation auriculaire que les femmes, un effet lié vraisemblablement aux androgènes puisque l'incidence de FA ne varie pas après la ménopause chez les femmes. Ainsi, nous proposons que les différences dans les propriétés électrophysiologiques et moléculaires entre les souris mâles et femelles se situent au niveau des densités de courants ioniques et de l'expression génique de ces canaux. Ces changements causeraient des altérations dans le potentiel d'action et la période réfractaire, soit dans l'activité électrique cardiaque impliquée dans le développement de la fibrillation auriculaire. De plus, nous postulons que la présence de perturbations dans la vitesse de conduction auriculaire chez les souris mâles serait observée, car elle est impliquée dans l'apparition des phénomènes de réentrées.

1.8 – Objectifs de la thèse

Le but de cette thèse est d'identifier les composantes moléculaires et cellulaires impliqués dans le développement de la fibrillation auriculaire dans deux modèles de souris. L'objectif de la première étude était d'établir le lien entre les impacts d'une surexpression d'AT1R et la susceptibilité à la FA. Ainsi, nous avons tout d'abord déterminé si les souris surexprimant les AT1R avaient une susceptibilité plus accrue à développer de la FA comparativement aux contrôles. Ensuite, nous avons évalué le lien entre la surexpression des récepteurs de type 1 de l'Ang II et les différents courants et canaux ioniques de même que les

connexines tant chez les jeunes (50 jours) souris que les plus âgées (6-8 mois). Nous avons également vérifié la différence de conduction cardiaque entre les deux groupes de souris.

L'objectif de la deuxième étude était d'étudier le rôle des hormones sexuelles mâles dans la prévalence plus élevée de FA observée cliniquement. Ainsi, nous avons d'abord confirmé la plus grande susceptibilité à la FA des souris mâles comparativement aux femelles. Ensuite, nous avons vérifié si des changements de courants et canaux ioniques ainsi que les connexines pouvaient expliquer les différences entre les sexes. Finalement, nous avons étudié le rôle des hormones sexuelles mâles dans la plus haute prévalence à la FA.

Chapitre 2 – Matériels et méthodes

Les méthodes utilisées dans cette thèse seront décrites dans les papiers présentés ci-dessous.

Chapitre 3 – Résultats

Article 1 : Lien entre le système rénine angiotensine et la fibrillation auriculaire (en préparation)

Atrial Electrical Remodeling in Mice with Cardiac Specific Overexpression of Angiotensin II Type 1 Receptor

Ton Anh-Tuan^{1,2}, Huynh Francois², Paradis Pierre³, Nemer Mona⁴ and Fiset Celine^{1,2}.

¹Research Center, Montreal Heart Institute, Montreal, Quebec, Canada

²Faculty of Pharmacy, Université de Montréal, Montréal, Quebec, Canada

³Lady Davis Institute for Medical Research, Jewish General Hospital, McGill University, Montreal, Quebec, Canada

⁴University of Ottawa, Ottawa, Canada

Corresponding author: Dr. Céline Fiset, Ph.D.
Research Center, Montreal Heart Institute
5000 Bélanger, Montréal, Québec, Canada, H1T 1C8
Phone : (514) 376-3330 (ext. 3025)
FAX : (514) 376-1355
E-mail : celine.fise@umontreal.ca

Running title: Atrial electrical remodeling induced by angiotensin II signaling

Total word count: 5001 words

Abstract

Chronic activation of the renin-angiotensin system (RAS) may lead to cardiac hypertrophy and arrhythmias; these detrimental effects of angiotensin II (AngII) are mediated by its type 1 receptor (AT1R). We have previously demonstrated that cardiac-specific overexpression of AT1R in mice reduced ventricular Na^+ , L-type Ca^{2+} and total K^+ currents. Conceivably, similar ionic changes could occur in the atria, thus promoting the development of atrial fibrillation (AF). The cause-effect relationship between AT1R overstimulation and AF has not been fully elucidated. Accordingly, the purpose of this study was to determine if chronic activation of AT1R alters atrial currents properties and connexin expressions, leading to increased susceptibility to AF. Atrial myocytes were isolated from C57BL/6 control (CTL) and AT1R male mice at age 50-day and 6-month, before and after the occurrence of structural remodelling respectively. Using EPS studies, we found that AT1R male mice (58%) had higher incidence of AF than the CTL (42%). Voltage-clamp data showed that chronic activation of AT1R reduced I_{Na} by 65%, consistent with $\text{Na}_v1.5$ mRNA (45%). Similarly, Cx40 mRNA was reduced by 40% in AT1R mice only. Incidentally, we observed increased PR interval and P-wave duration and decreased action potential amplitude and maximal velocity upstroke of the action potential in AT1R mice. Moreover, this atrial hypertrophy was associated with a reduced I_{CaL} (33%) and $\text{Cav}1.2$ mRNA (30%). Conversely, atrial K^+ currents density was not affected by AT1R or hypertrophy. Overall, we showed that atrial and ventricular myocytes were differently regulated by chronic activation of AT1R. We also highlighted the important impact of I_{Na} and Cx in atrial myocytes which could contribute to the cellular mechanisms responsible for the increased incidence of AF associated with higher RAS activity. **Key words:** Angiotensin II type 1 receptor; Atrial Electrophysiology; Connexins; Atrial Fibrillation, Renin-Angiotensin System

Abbreviations

50d	50-day-old
6mo	6-month-old
α -MHC	α -myosin heavy chain
ACE	angiotensin-converting enzyme
AF	atrial fibrillation
AngII	angiotensin II
ANP	atrial natriuretic peptide
APA	action potential amplitude
APD	action potential duration
AT1R	Angiotensin II type 1 receptor
Ca _v 1.2	α subunit of L-type Ca ²⁺ current
CTL	control
Cx	connexin
EPS	electrically programmed stimulations
I _{CaL}	L-type Ca ²⁺ current
iECG	intracardiac ECG
I _{K1}	inward rectifier K ⁺ current
I _{KAch}	G protein-gated inward rectifier K ⁺ current
I _{Kr}	rapid component of the delayed rectifier K ⁺ current
I _{Kur}	ultra-rapid delayed rectifier K ⁺ current
I _{Na}	sodium current
I _{to}	Ca ²⁺ -independent transient outward K ⁺ current
Nav1.5	α subunit of the cardiac sodium channel
NSR	normal sinus rhythm
qPCR	quantitative polymerase chain reaction
RAS	renin-angiotensin system
SAN	sinoatrial node
V _{max}	maximal velocity upstroke of the action potential

Introduction

The renin-angiotensin system (RAS) plays a key role in the regulation of physiological processes within the cardiovascular system. Substantial evidence suggests that chronic stimulation of the RAS is associated with increased incidence of cardiovascular diseases such as hypertension, hypertrophy, heart failure, and arrhythmias.[1-3] These detrimental effects are largely due to the activation of its primary effector, angiotensin II (AngII) type 1 receptor (AT1R). Also, it has been shown that increased local production of AngII in the heart leads to atrial morphological changes, cardiac arrhythmias, and sudden death.[4] Therefore, evidence supports the implication of the RAS in the atrial structural and electrical cardiac remodeling processes, and these alterations may act as triggers for atrial fibrillation (AF) initiation and maintenance.[5-8] For instance, Xiao *et al.* demonstrated in a mouse model that cardiac-specific angiotensin-converting enzyme (ACE) overexpression produces atrial enlargement causing AF.[9] Moreover, patients with AF have increased levels of ACE and AT1R in the left atrium.[10, 11] Additionally, ACE inhibitors (ACEI) and angiotensin receptors blockers reduce the risk of AF development in heart failure patients, [7, 12-15] while other antihypertensive drugs have no effect. These data suggest that the RAS may directly influence cardiac structure and function through local production of AngII and that the beneficial clinical effects of RAS blockade may not be solely hemodynamic.[16-18]

AF is the most common sustained arrhythmia encountered in clinical practice as it affects approximately 33.5 million people worldwide.[19] AF is known to be induced by various remodeling processes, such as electrophysiological and structural remodeling, creating a vicious circle self-promoting further AF. Consequently, AF is often associated with decreased conduction velocity and/or changes of the atrial action potential duration (APD) due to

alterations of ionic currents.[20] Hence, along with the development of atrial fibrosis, a reduction of atrial Na^+ current (I_{Na}) density (implicated in the initiation of the action potential), and a decreased expression of connexins (Cx) (involved in the electrical impulse propagation) could contribute to a slower conduction velocity in the atria.[21] Moreover, changes in several K^+ and Ca^{2+} currents have been associated with the development of AF.[22, 23] For instance, an increase in K^+ currents or a reduction of L-type Ca^{2+} current (I_{CaL}) may enhance the maintenance of AF by shortening the APD.[24, 25]

Experimental studies also support the role of AngII in cardiac remodeling accountable for arrhythmia predisposition.[26] Domenighetti *et al.* showed that specific cardiac overexpression of AngII leads to ventricular hypertrophy, decreased contractility, and increased incidence of ventricular arrhythmias initiated by a reduction of the inward rectifier K^+ current (I_{K1}).[27] We previously showed that cardiac-specific overexpression of AT1R caused important ventricular electrophysiological remodeling, with a reduction of several ventricular K^+ currents and I_{Na} . [28] Moreover, we also revealed that AT1R-overexpressed mice develop ventricular contractile dysfunction with decreased cell shortening ratio, associated with a decrease of I_{CaL} density, Ca^{2+} transient, sodium-calcium exchanger (NCX) and SR Ca^{2+} -ATPase (SERCA) protein expression; [29, 30] this ventricular electrophysiological and structural remodeling with decreased contractility induced by cardiac specific overexpression of AT1R occurred independently of the development of hypertrophy.

Based on our previous work, we hypothesized that the cardiac-specific overexpression of AT1R can also regulate major atrial ionic currents (Na^+ , Ca^{2+} , and K^+ currents), which would lead to a disturbance of the APD, thereby favoring the development of AF. As cardiac conduction is an important factor in the maintenance of AF,[31] we aimed to investigate the role of connexins in an AT1R-overexpressed mouse model. Accordingly, the purpose of this study was to determine if chronic activation of AT1R alters atrial currents properties and connexin expressions, leading to the onset and maintenance of AF. Briefly, we demonstrated that AT1R overexpression increased AF susceptibility in association with a decreased atrial Na^+ currents, Nav1.5 expression and Cx40 gene expression; while atrial hypertrophy caused an additional reduction of I_{CaL} density and its underlying Ca^{2+} channel α -subunit (Cav1.2).

Methods

Animals

Heterozygous male C57BL/6 overexpressed AT1R mice aged 50 ± 5 days (50d; no hypertrophy) and 6-8 months (6mo; presence of hypertrophy) as well as sex and age-matched wild-type littermate controls (CTL) were used in this study. This transgenic mouse model overexpressing the human AT1R receptor specifically in cardiomyocytes under the control of the mouse α -myosin heavy chain (α -MHC) promoter was described previously.[1] All experiments were performed in accordance to the guidelines of the Canadian Council on Animal Care and the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals published by the National Research Council (8th ed. National Academies 2011). Experiments were also approved by the Montreal Heart Institute Animal Care Committee (Protocol 2015-80-03).

Left atrial mouse myocyte isolation

Single atrial myocytes were isolated from the left atrium of male mice by enzymatic dissociation using Worthington collagenase type II (73.7 U/ml) as previously described.[32, 33] Left atrium was used as it has been described to be more susceptible to AF.[34-36] In brief, mice were heparinized (3000 U/kg intraperitoneally) 15 min before removal of the heart to prevent blood coagulation. Mice were then anesthetized by isoflurane inhalation and killed by cervical dislocation. The hearts were rapidly removed, and retrogradely perfused through the aorta (2 ml/min) on a modified Langendorff apparatus with the following solutions: 1) 5 min with HEPES-buffered Tyrode's solution containing (in mM): 130 NaCl, 5.4 KCl, 1 CaCl₂, 1 MgCl₂, 0.33 Na₂HPO₄, 10 HEPES, and 5.5 glucose (pH adjusted to 7.4 with NaOH); 2) 3 minutes with

a Ca^{2+} -free Tyrode's solution; 3) 35 minutes with a Tyrode's solution containing 0.03 mM Ca^{2+} , 20 mM taurine, 0.1% BSA (Fraction V; Sigma Chemicals, St-Louis, MO), and 73.7 U/ml type II collagenase (Worthington, Free-hold, NJ); and 4) 5 minutes 30 seconds with a Kraft-Brühe (KB) solution containing (in mM): 100 K^{+} -glutamate, 10 K^{+} -aspartate, 25 KCl, 10 KH_2PO_4 , 2 MgSO_4 , 20 taurine, 5 creatine base, 0.5 EGTA, 5 HEPES, 20 glucose, and 0.1% BSA (pH adjusted to 7.2 with KOH). All solutions were maintained at $37 \pm 1^\circ\text{C}$. At the end of the perfusion, atria were removed and placed in KB solution. The tissue was minced and triturated for 3-5 minutes in order to isolate individual atria myocytes. Atrial myocytes cells were stored in KB at 4°C until being used 2–6 h later. Only rod-shaped myocytes were used for electrophysiological experimental studies.

Cellular electrophysiology

For Na^{+} and K^{+} current measurements, patch-clamp experiments were performed at room temperature ($20\text{-}22^\circ\text{C}$); while I_{CaL} measurements were carried out at 37°C . Whole-cell voltage recording methods have been described previously.[28, 37-41] In brief, the myocytes were placed in a recording chamber (volume $\sim 200 \mu\text{l}$) on the stage of an inverted microscope, and given 10 minutes to adhere to the bottom of the bath. The cells were perfused with a solution at 2 ml/min. Pipettes were made from borosilicate glass (World Precision Instruments, Sarasota, FL, USA), and had resistances in the range of 2–4 $\text{M}\Omega$ when filled with pipette solutions. For Na^{+} current measurements, cells were perfused with a solution containing (in mM): 132.5 CsCl, 10 glucose, 1 MgCl_2 , 1 CaCl_2 , 20 HEPES, and 5 NaCl (pH adjusted to 7.4 with CsOH). Patch

pipettes were filled with the following solution (mM): 132.5 CsF, 5 NaCl, 5 Mg-ATP, 10 EGTA, and 5 HEPES (pH adjusted to 7.2 with CsOH). [28]

For K⁺ current measurements, cells were perfused with a previously published HEPES-buffered Tyrode solution. Patch pipettes were filled with the following solution (mM): 110 K⁺-aspartate, 20 KCl, 8 NaCl, 1 MgCl₂, 1 CaCl₂, 10 BAPTA, 4 K₂-ATP, and 10 HEPES (pH adjusted to 7.2 with KOH).[33, 39, 42, 43]

For L-type Ca²⁺ current measurements, cells were perfused with a solution containing (in mM): 10 CsCl, 5.5 glucose, 0.5 MgCl₂, 2 CaCl₂, 5 HEPES, and 145 TEACl (pH adjusted to 7.4 with CsOH). Patch pipettes were filled with the following solution (in mM): 100 aspartic acid, 70 CsOH, 40 CsCl, 2 MgCl₂, 4 Mg-ATP, 10 EGTA, and 10 HEPES (pH adjusted to 7.2 with CsOH).[30, 40]

Whole-cell voltage recordings protocols were previously published.[28-30, 39-41] Briefly, the recordings were obtained using ruptured patch technique with an AxoPatch 200B patch-clamp amplifier (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA). Series resistances were in the range of 4-8 MΩ. Only cells with a compensated series resistance (R_s) (compensation set at 50-70%) of 10 MΩ or less were kept for analysis. Voltage-clamp currents were low-pass filtered at 2 kHz with a 4-pole Bessel analog filter, digitized at 4–10 kHz using pCLAMP 10.2 (Molecular Device). Recorded membrane potentials were corrected by -10 mV to compensate for the liquid junction potential. Briefly, the peak Na⁺ current (I_{Na}) was elicited by a series of 40-ms test potentials varying from -90 mV to +15 mV in 5 mV increments from a holding potential of -90 mV at a frequency rate of 0.1 Hz.[28] Total K⁺ current was elicited by a series of 500 ms test potentials

varying from -110 mV to +50 mV in 10 mV increments from a holding potential of -80 mV at a frequency rate of 0.1 Hz.[29, 39, 42] L-type Ca^{2+} current (I_{CaL}) was elicited by a series of 250 ms test potentials varying from -50 mV to +60 mV in 5 to 10 mV increments from a holding potential of -90 mV preceded by a prepulse of 50 ms at -50 mV in order to inactivate Na^+ current and I_{CaT} .[30, 40]

Quantitative polymerase chain reaction (qPCR)

Reverse transcription and qPCR for Nav1.5, Cav1.2, Cx40, Cx43, and ANP was performed on left atrial total RNA as previously published.[30, 37, 38] Briefly, total RNA was isolated from the atria with a RNeasy fibrous tissue kit (Qiagen) and treated with DNase I to prevent contamination by genomic DNA. cDNA were synthesized with the Maxima Reverse Transcriptase enzyme kit (Fermentas) and primers specific for the genes of interest (Table 1). The qPCR was then performed using DyNAmo Color Flash SYBR Green qPCR kit (Thermo Scientific) and a real-time PCR system (MX3005P QPCR system; Stratagene). Each sample was analyzed in triplicate and the analysis of mRNA expression was quantified relative to the mean level of two housekeeping genes (murine cyclophyllin and succinate dehydrogenase complex subunit A (SDHA) mRNA) signal. For all qPCR experiments, two left atria were used per sample (n).

Electrically programmed stimulations (EPS) studies

In vivo studies were performed under anesthesia (2% isoflurane). The body temperature of the mice was monitored and kept at 37°C by the use of a heating pad. In order to study the incidence

of AF in mice, an octopolar catheter electrode (Transonic, 1.2F) designed for mouse electrophysiology was introduced into the heart through the right jugular vein. Bipolar recordings were obtained from the distal two electrode pairs and right atrial pacing was performed at 1.5 time the pacing threshold. Atrial stimulations were made downstream of the recording area within the right atrium using programmed electrical stimulations where a drive train of 8 paced beats repeated 26 times was used. The paced cycle length was sequentially reduced in 10 ms decrements steps with a minimal coupling interval of 50 ms. The stimulus was repeated 8 times every second. To be considered as AF, the event has to last more than 1 second and be induced more than once per animal.

Statistical analysis

All the results are expressed as mean \pm standard error of the mean. An unpaired two-tailed Student's *t*-test or a one-way ANOVA were used when appropriate. The post test used was Tukey's HSD (highest significant difference) post hoc test. Statistical analysis was performed using Origin 8.0 (OriginLab Corporation). A p-value inferior to 0.05 was considered statistically significant. n represents for the number of cells, N represents the number of mice.

Results

Inducibility of atrial fibrillation is higher in AT1R mice

Using EPS protocols to trigger AF in the right atrium, we compared inducibility of AF between transgenic mice of 6-month-old overexpressing AT1R and their age-matched CTL. Representative surface electrocardiogram (ECG) and intracardiac ECG (iECG) recordings in normal sinus rhythm (NSR) and following AF are displayed in Figure 1A. To confirm the catheter's position inside the atria, the biggest deflection in NSR on the iECG must be aligned with the P-wave of the surface ECG. Moreover, this data demonstrated that the mouse reverts to NSR following an AF event; indeed, during an AF event, there were multiple P-waves per QRS complexes and upon recovery, we observed only one P-wave per QRS complex, similar to the ECG before the burst stimulation. Compared to NSR, the deflections recorded in the iECG during an AF event were chaotic. In these experiments, arrhythmic events had to last more than 1 second and be repeated at least once during the protocol to be considered as an atrial fibrillation. Finally, a higher susceptibility to AF events in the AT1R mice (7 out of 12 mice; 58%) compared to their age-matched CTL (5 mice out of 12; 42%), as shown in Figure 1B, suggested higher predisposition of developing AF with chronic RAS activation.

Cardiac remodeling in AT1R mice

Atrial natriuretic peptide (ANP) expression and cell capacitance at both ages (50d and 6mo) in the two groups (CTL and AT1R) were measured to confirm the presence of atrial fibrosis and hypertrophy at the molecular and cellular level, respectively (Figure 2). Levels of ANP mRNA expression was comparable in left atrial tissues isolated from 50d CTL and AT1R mice ($p =$

0.95). Furthermore, atrial cell capacitances were also similar between groups in 50d mice (CTL: 44 ± 2 pF, n = 17; AT1R: 49 ± 2 pF, n = 25; p = 0.11). Together, these data suggested the absence of atrial fibrosis and hypertrophy at the molecular and cellular levels in 50d AT1R mice. By contrast, there was a two-fold increase in ANP mRNA levels in 6mo AT1R mice (p < 0.05) and 43% increase in cell capacitances compared to CTL (CTL: 48 ± 1 pF, n = 29; AT1R: 69 ± 3 pF, n = 20; p < 0.05). Thus, AT1R overexpression leads to significant atrial hypertrophy over time as previously shown at the ventricular levels.[28-30] Then, we intended to further delineate the effect of AT1R overexpression and atrial hypertrophy on atrial electrophysiology.

Overexpression of AT1R reduces I_{Na} , Nav1.5, and Cx 40 expression in young animals

We have previously shown a reduction of I_{Na} in AT1R ventricular myocytes which caused a slower maximal velocity of the action potential upstroke.[28] Figure 3 compared I_{Na} density between CTL and AT1R at 50d. Voltage clamp data in 50d mice (Figure 3A and B) depicted a reduction of I_{Na} density in AT1R mouse (at -40 mV: -9.6 ± 1.4 pA/pF, n = 14, N = 5) compared to their age-matched CTL (-27.1 ± 2.1 pA/pF, n = 13, N = 4, p < 0.05). Consistent with these electrophysiological findings, a significant decrease of Nav1.5 mRNA expression in the atrial tissue of the 50d AT1R mice was found (Figure 3C). Moreover, qPCR data from Figure 4 depicted a 45% reduction of left atrial Cx40 mRNA expression in 50d AT1R mice (p < 0.05), while Cx43 mRNA levels were similar in the 2 groups. These results indicated that AT1R overexpression leads to modifications of Nav1.5 and Cx40 transcription modulating atrial action potential depolarisation and conduction, which could promote AF.

I_{CaL} and K⁺ currents are unaffected by AT1R overexpression at 50 days

As mentioned above, we previously reported a reduction of I_{CaL} and K⁺ currents in ventricular myocytes of 50d AT1R mouse, indicating that chronic activation of AT1R before the development of hypertrophy reduces I_{CaL} and K⁺ current and were associated with a reduced mRNA expression of the underlying ion channel α -subunits.[29, 30] Based on previous observations in ventricular myocytes, we examined I_{CaL} and K⁺ currents in atrial myocytes of 50d mice. Unlike ventricular data, atrial I_{CaL} density was comparable between AT1R (at 0 mV; -3.7 ± 0.2 pA/pF; n = 25, N = 6; p = 0.12) and CTL mice (-4.2 ± 0.3 pA/pF; n = 21, N = 7) (Figure 5). Similarly, no difference in the outward portion of the total K⁺ current density was observed between atrial myocytes from CTL (at +30 mV; 18.6 ± 2.2 pA/pF; n = 17, N = 5) and AT1R mice (15.1 ± 1.3 pA/pF; n = 13, N = 5; p = 0.21) nor in the inward portion of the total K⁺ current density between both groups (at -110 mV; CTL: -14.8 ± 3.7 pA/pF; n = 17, N = 5; AT1R: -14.5 ± 2.8 pA/pF; n = 13, N = 5, p = 0.74) (Figure 6). Therefore, these results indicated that atrial I_{CaL} and total K⁺ currents are unaltered by cardiac-specific AT1R overexpression, suggesting different mechanisms of ionic regulation by the RAS between the ventricles and atria.

Electrophysiological and ECG parameters related to Na⁺ and connexin expression in atrial myocytes of 50 day-control and AT1R mice

As I_{Na} is highly implicated in the action potential depolarization phase, we decided to verify its implication in the action potential amplitude (APA) and maximal velocity of the action potential (V_{max}). Our data (shown in Table 1a) revealed a decreased atrial APA (CTL: 109.7 ± 5.4 mV,

n = 15; AT1R: 82.5 ± 4.8 mV, n = 10, $p < 0.05$) and V_{max} (CTL: 88.2 ± 3.4 mV/ms, n = 15, AT1R: 31.5 ± 4.8 mV/ms, n = 10, $p < 0.05$) in 50d AT1R mice compared to CTL, consistent with the reduction of atrial I_{Na} density. Then, we looked at the P-wave duration, representing atrial depolarisation, and PR interval, reflecting the duration of atrial AP and electrical propagation from one cell to the other (therefore influenced by both I_{Na} density and Cx expression), in order to determine if the decreased I_{Na} and Cx40 would affect atrial depolarisation and conduction time. We found prolonged duration of the P-wave (CTL: 10.2 ± 0.5 ms, N = 1; AT1R: 15.4 ± 0.8 ms, N = 7, $p < 0.05$) and PR interval (CTL: 31.1 ± 0.6 ms, n = 11; AT1R: 43.4 ± 0.9 ms, n = 7, $p < 0.05$) in 50d AT1R mice compared to their age-matched CTL. Consequently, the lower APA and V_{max} and increased duration of the P-wave and PR interval were associated with the lower I_{Na} density and expression of Cx40, which could all contribute to AF.

Atrial hypertrophy does not exacerbate the reduction of I_{Na} and Cx40 in AT1R mice

Comparison in I_{Na} between 6mo CTL vs. AT1R was shown in Figure 7, depicting a reduction of I_{Na} in AT1R mice (at -40 mV; -11.6 ± 2.0 pA/pF, n = 15; $p < 0.05$) compared to CTL (-29.2 ± 3.9 pA/pF, n = 15). Moreover, these values were similar to what was observed in 50d mice (AT1R: -9.6 ± 1.4 pA/pF, n = 14, N = 5; CTL: -27.1 ± 2.1 pA/pF, n = 13, N = 4 $p = NS$), indicating that the presence of hypertrophy did not further decrease I_{Na} density. Consistent with electrophysiological data, mRNA expression of $Nav1.5$ in 6mo AT1R mice was reduced by 39% (Figure 7C), which was similar to 50d $Nav1.5$ mRNA reduction ($34 \pm 9\%$ at 50d vs. $39 \pm 8\%$ at 6mo; $p = NS$). Cx40 and Cx43 were then compared between 6mo AT1R and CTL mice in Figure

8. Similar to our observation in 50d mice, 6mo AT1R mice mRNA expression of Cx40 was reduced by 55% compared to CTL, as shown in Figure 8A, ($45 \pm 10\%$ at 50d vs. $55 \pm 3\%$ at 6mo; $p = \text{NS}$) while Cx43 expression was similar between 6mo AT1R mice and age-matched CTL (Figure 8B).

The decrease in I_{Na} density and Cx40 expression in the 6mo AT1R mice led to a comparable decrease in APA (CTL: 118.7 ± 2.6 mV, $n = 21$; AT1R: 109.0 ± 3.7 mV, $n = 15$, $p < 0.05$) and V_{max} (CTL: 72.3 ± 3.4 mV/ms, $n = 21$; AT1R: 42.3 ± 5.3 mV/ms, $n = 15$, $p < 0.05$) and increase in P-wave duration (CTL: 10.6 ± 0.3 ms, $n = 8$; AT1R: 19.8 ± 1.5 ms, $n = 8$, $p < 0.05$) and PR interval (CTL: 37.2 ± 1.5 ms, $n = 8$; AT1R: 47.8 ± 1.9 ms, $n = 8$, $p < 0.05$) when compared to the CTL (Table Ib). Because I_{Na} density and Cx40 expression were similarly reduced in AT1R mice of both age groups when compared to CTL (Figure 3, 4, 7 and 8), this implies that hypertrophy yields no further effect on $\text{Nav}1.5$ and Cx40 mRNA expression.

Atrial hypertrophy decreases I_{CaL} but does not affect K^+ currents

Voltage clamp data showed a decreased I_{CaL} density in 6mo AT1R (at 0 mV; -3.6 ± 0.2 pA/pF; $n = 26$, $N = 6$) mice compared to CTL (-5.4 ± 0.4 pA/pF; $n = 28$, $N = 7$; $p < 0.05$) (Figure 9A-B). Consistent with these electrophysiological findings, qPCR data showed a 30% reduction of $\text{Cav}1.2$ mRNA expression in the AT1R compared to CTL mice ($p < 0.05$) (Figure 9C). On the other hand, total K^+ current density remains unaffected in 6mo AT1R mice compared to CTL. Indeed, neither the outward nor the inward portion of the total K^+ current were different between AT1R (at +30 mV: 12.6 ± 0.8 pA/pF; at -110 mV: -13.83 ± 0.5 pA/pF; $n = 31$, $N = 14$) and CTL mice of 6mo (at +30 mV; 14.1 ± 0.9 pA/pF, $p = 0.07$; at -110 mV: -15.8 ± 0.8 pA/pF, $p = 0.052$;

n = 39, N = 11) (Figure 10A-B). Together, the Ca²⁺ and K⁺ currents data showed that I_{CaL} and K⁺ currents were unaffected by AT1R overexpression alone and that presence of atrial hypertrophy reduced I_{CaL} through regulation of Cav1.2 mRNA, whereas K⁺ currents were unaltered by the AT1R-induced hypertrophy.

Discussion

Summary of main findings

We used mice with cardiac-specific AT1R overexpression to determine whether chronic activation of the RAS cause atrial remodeling and promote atrial fibrillation development. First, we found increased susceptibility to atrial fibrillation in mice with AT1R overexpression, associated with selective reduction in I_{Na} which did not affect I_{CaL} and K^+ atrial currents. In line with these results, Nav1.5 mRNA expression was also selectively reduced in atrial tissues of AT1R mice, together with Cx40 reduction, whereas Cx43 was unaltered. These data paralleled the electrophysiological findings of decreased APA and V_{max} and increased P-wave and PR interval duration on the surface ECG of AT1R mice. In older animals, while I_{Na} density and Cx40 expression were not further reduced by atrial hypertrophy, reduction of I_{CaL} density and Cav1.2 expression were observed; though, K^+ current density and Cx43 expression were unaffected by atrial hypertrophy. Finally, the action potential (APA and V_{max}) and ECG (P-wave duration and PR interval) properties of 6mo AT1R mice were modulated in a similar manner as the 50d mice when compared to their age-matched CTL.

Role of sodium current and connexin 40 in atrial conduction

Sodium channels play an important role in the initiation and configuration of the action potential. Indeed, we have previously demonstrated that a decreased ventricular I_{Na} in AT1R mice led to the widening of the QRS complex.[28] Moreover, other studies have shown the association between Na^+ channels and AF; for example, Sossala *et al.* have established that Nav1.5 expression and peak I_{Na} density were significantly reduced in AF patients compared to

healthy patients [44] and Yue *et al.* have shown that dogs with AF had a reduction of atrial Nav1.5 mRNA and protein expression.[45] Furthermore, a loss-of-function in Nav1.5 often resulted in severe conduction disturbances.[46] Therefore, by delaying the depolarisation of the action potential, this electrophysiological remodeling can cause slower electrical propagation and, more importantly, can result in the development of abnormal electrical activities in atrial myocytes, favoring ectopic firing and re-entry events. We have demonstrated that Nav1.5 is a major determinant of conduction velocity, where a reduction of atrial Na⁺ current was associated with a decrease of amplitude and maximal velocity upstroke of the atrial action potential, in agreement with published literature.

In the mature murine heart, Cx40 is the dominant connexin in the atria, while Cx43 is predominantly expressed in the ventricles and Cx45 is majorly expressed in the specialized conduction system.[47] The regional remodeling of connexins may contribute to the spatiotemporal organization of connexins leading to AF. This remodeling can go from lateralization of the connexin expression to the reduction of its expression, causing respectively, an alternate conductive pathway or a reduced conduction velocity within the atria. [48] Clinical data have reported that during AF, connexin levels were reduced and laterally distributed at the cell surface.[49] However, other studies have shown an increased expression of Cx40 in AF animal models.[50] In those cases, the authors explained the increase as the result of a higher global protein expression associated with an increased lateralization of Cx40 expression. Finally, along with lower Na⁺ currents, the reduced expression of Cx40 observed in our study led to a slower atrial conduction velocity (as seen in Table 1 where PR intervals were increased in AT1R mice), which can favor the occurrence of AF.

Influence of the renin-angiotensin system on atrial K⁺ and Ca²⁺ currents

Several studies support the role of AngII in ventricular K⁺ currents regulation. Indeed, we have previously observed that AngII reduced I_{K1}, [27] I_{to}, I_{kur}, [29], and the rapid component of the delayed rectifier potassium current (I_{Kr}) in ventricular myocytes. [51] Therefore, we sought to determine if disturbances of atrial K⁺ currents would play a primordial role in AF predisposition and showed that neither AT1R overexpression nor hypertrophy affected atrial K⁺ currents, demonstrating that RAS regulation on K⁺ currents differs between ventricles and atria.

Previous studies have shown the impact of AngII on L-type calcium channels. We previously found a decreased I_{CaL} density in mouse ventricles exposed to a cardiac-specific overexpression of AT1R. [30] Moreover, Laszlo *et al.* have shown that the use of Enalapril, an ACE inhibitor, increased I_{CaL} density in rabbit atria, but could not revert the decreased I_{CaL} caused by rapid atrial pacing. [52] Laszlo's results may explain why the use of ACEI are more efficient to prevent the occurrence of atrial fibrillation in patients with heart failure, rather than "cure" atrial fibrillation. [53] Furthermore, the reduction of I_{CaL} can be a compensatory mechanism in response to the increased cytosolic Ca²⁺ concentration following rapid atrial pacing, rendering the use of Enalapril ineffective (negative feedback loop). Based on our current findings, AT1R overexpression did not directly alter atrial I_{CaL}, as shown by the unchanged current density and Ca_v1.2 mRNA relative expression in 50d AT1R versus CTL mice, which reiterated the difference in ionic regulation by the RAS between ventricles and atria.

Modulation of L-type Ca²⁺ channels by atrial hypertrophy

Atrial structural remodeling is characterized by the development of myocytes hypertrophy and atrial fibrosis due to the expansion of the extracellular matrix, interstitial fibroblast proliferation and its differentiation into myofibroblasts. These fibroblasts can interact with cardiomyocytes electrically by slowing conduction and depolarizing the resting membrane potential of cardiomyocytes which leads to a decrease in action potential amplitude,[54] shortening of action potential duration and increased AF risk.[55] Furthermore, it has been reported that cardiac-specific ACE overexpression caused atrial enlargement and AF,[9] by affecting K⁺ and Ca²⁺ currents.[56] This overexpression of ACE would synthesize more AngII leading to increased activation of AT1R. Moreover, using a combination of AT1R-overexpression and angiotensinogen-KO (to block the synthesis of AngII) mouse model, Yasuda *et al.* have shown increased atrial dilation accompanied by fibrosis and these effects were prevented when Candesartan, an AT1R antagonist, was used.[57] Likewise, we showed that AT1R overexpression in 6mo mice caused atrial hypertrophy at the cellular and molecular levels.

In this study, we have shown differential regulation of L-type Ca²⁺ channels by the RAS in the atria compared to previous work done on the ventricles. However, it seems that following the occurrence of the RAS-induced atrial structural remodeling, regulation of I_{CaL} is similar between chambers. Indeed, Alvin *et al.* found that volume overload-induced hypertrophy reduced I_{CaL} in rat ventricular myocytes and that a 3 week-course treatment with an ACEI, Captopril, recovered it,[58] while we demonstrated that only the atrial L-type Ca²⁺ channel (Cav1.2) and current were

reduced by hypertrophy. These observations suggested that I_{CaL} can be affected by RAS-associated hypertrophy and their regulation can be similar in the ventricles and atria.

Limitations of the study

It was technically impossible to evaluate AF susceptibility in 50d mice using EPS studies, owing to their small size. Nevertheless, it is likely that EPS data performed in 6mo mice could be translated in the 50d mice; since electrophysiological (I_{Na} density), molecular biology (Cx40 mRNA expression) and physiological (action potential and ECG properties) data were similarly altered by the overexpression of AT1R in the two age groups, 50d and 6mo mice.

Conclusion

In conclusion, we demonstrated that increased activity of the RAS could lead to a slower action potential velocity and conduction delays in mouse atria. The overexpression of AT1R reduces I_{Na} (and $Na_v1.5$) density and Cx40 expression through transcriptional modifications; while RAS-induced hypertrophy only decreased I_{CaL} density and $Ca_v1.2$ expression. Our results clearly demonstrated that the ion channels in the atria and the ventricles are differently regulated by the renin-angiotensin system. Finally, our findings also suggest that the lower I_{Na} and Cx expression have an important impact on the atrial myocytes action potential parameters and conduction system, providing potential explanation on the cellular mechanisms responsible for the increased incidence of AF in cardiovascular diseases with neurohormonal activation and increased RAS activity.

Funding

This work was supported by Canadian Institutes of Health Research Grant MOP-89934 (to C. Fiset) and the Heart and Stroke Foundation of Quebec. Dr. Ducharme holds the University of Montreal chair Fondation Marcelle et Jean Coutu, Cal and Janine Moisan for better practices in advanced heart failure.

Acknowledgements

The authors are thankful to N. Ethier, A. Douillette, M-A. Gillis, J. Panasci, and M-E. Matte for skilled technical assistance.

Conflict of Interest

No conflicts of interest, financial or otherwise, are declared by the authors.

References

1. Paradis, P., N. Dali-Youcef, F.W. Paradis, G. Thibault and M. Nemer, *Overexpression of angiotensin II type I receptor in cardiomyocytes induces cardiac hypertrophy and remodeling*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2000. **97**(2): p. 931-6.
2. Iravanian, S., A.A. Sovari, H.A. Lardin, H. Liu, H.D. Xiao, E. Dolmatova, Z. Jiao, B.S. Harris, E.A. Witham, R.G. Gourdie, H.S. Duffy, K.E. Bernstein, and S.C. Dudley, Jr., *Inhibition of renin-angiotensin system (RAS) reduces ventricular tachycardia risk by altering connexin43*. J Mol Med (Berl), 2011. **89**(7): p. 677-87.
3. Hein, L., G.S. Barsh, R.E. Pratt, V.J. Dzau and B.K. Kobilka, *Behavioural and cardiovascular effects of disrupting the angiotensin II type-2 receptor in mice*. Nature, 1995. **377**(6551): p. 744-7.
4. Fischer, R., R. Dechend, A. Gapelyuk, E. Shagdarsuren, K. Gruner, A. Gruner, P. Gratze, F. Qadri, M. Wellner, A. Fiebeler, R. Dietz, F.C. Luft, D.N. Muller, and A. Schirdewan, *Angiotensin II-induced sudden arrhythmic death and electrical remodeling*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2007. **293**(2): p. H1242-53.
5. Batra, G., L. Lindhagen, P. Andell, D. Erlinge, S. James, J. Spaak and J. Oldgren, *Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors and Angiotensin II Receptor Blockers Are Associated With Improved Outcome but Do Not Prevent New-Onset Atrial Fibrillation After Acute Myocardial Infarction*. J Am Heart Assoc, 2017. **6**(3).
6. Gassanov, N., M.C. Brandt, G. Michels, M. Lindner, F. Er and U.C. Hoppe, *Angiotensin II-induced changes of calcium sparks and ionic currents in human atrial myocytes: potential role for early remodeling in atrial fibrillation*. Cell Calcium, 2006. **39**(2): p. 175-86.

7. Healey, J.S., A. Baranchuk, E. Crystal, C.A. Morillo, M. Garfinkle, S. Yusuf and S.J. Connolly, *Prevention of atrial fibrillation with angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin receptor blockers: a meta-analysis*. J Am Coll Cardiol, 2005. **45**(11): p. 1832-9.
8. Suo, Y., Y. Zhang, Y. Wang, M. Yuan, S. Kariyawasam, G. Tse, T. Liu, H. Fu and G. Li, *Renin-angiotensin system inhibition is associated with reduced risk of left atrial appendage thrombosis formation in patients with atrial fibrillation*. Cardiol J, 2017.
9. Xiao, H.D., S. Fuchs, D.J. Campbell, W. Lewis, S.C. Dudley, Jr., V.S. Kasi, B.D. Hoit, G. Keshelava, H. Zhao, M.R. Capecchi, and K.E. Bernstein, *Mice with cardiac-restricted angiotensin-converting enzyme (ACE) have atrial enlargement, cardiac arrhythmia, and sudden death*. Am J Pathol, 2004. **165**(3): p. 1019-32.
10. Boldt, A., U. Wetzel, J. Weigl, J. Garbade, J. Lauschke, G. Hindricks, H. Kottkamp, J.F. Gummert and S. Dhein, *Expression of angiotensin II receptors in human left and right atrial tissue in atrial fibrillation with and without underlying mitral valve disease*. J Am Coll Cardiol, 2003. **42**(10): p. 1785-92.
11. Goette, A., M. Arndt, C. Rocken, A. Spiess, T. Staack, J.C. Geller, C. Huth, S. Ansorge, H.U. Klein and U. Lendeckel, *Regulation of angiotensin II receptor subtypes during atrial fibrillation in humans*. Circulation, 2000. **101**(23): p. 2678-81.
12. Kasi, V.S., H.D. Xiao, L.L. Shang, S. Iravanian, J. Langberg, E.A. Witham, Z. Jiao, C.J. Gallego, K.E. Bernstein and S.C. Dudley, Jr., *Cardiac-restricted angiotensin-converting enzyme overexpression causes conduction defects and connexin dysregulation*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2007. **293**(1): p. H182-92.

13. Vermes, E., J.C. Tardif, M.G. Bourassa, N. Racine, S. Levesque, M. White, P.G. Guerra and A. Ducharme, *Enalapril decreases the incidence of atrial fibrillation in patients with left ventricular dysfunction: insight from the Studies Of Left Ventricular Dysfunction (SOLVD) trials*. *Circulation*, 2003. **107**(23): p. 2926-31.
14. Maggioni, A.P., R. Latini, P.E. Carson, S.N. Singh, S. Barlera, R. Glazer, S. Masson, E. Cere, G. Tognoni, J.N. Cohn, and F.T.I. Val-He, *Valsartan reduces the incidence of atrial fibrillation in patients with heart failure: results from the Valsartan Heart Failure Trial (Val-HeFT)*. *Am Heart J*, 2005. **149**(3): p. 548-57.
15. Ducharme, A., K. Swedberg, M.A. Pfeffer, A. Cohen-Solal, C.B. Granger, A.P. Maggioni, E.L. Michelson, J.J. McMurray, L. Olsson, J.L. Rouleau, J.B. Young, B. Olofsson, M. Puu, S. Yusuf, and C. Investigators, *Prevention of atrial fibrillation in patients with symptomatic chronic heart failure by candesartan in the Candesartan in Heart failure: Assessment of Reduction in Mortality and morbidity (CHARM) program*. *Am Heart J*, 2006. **152**(1): p. 86-92.
16. Garg, R. and S. Yusuf, *Overview of randomized trials of angiotensin-converting enzyme inhibitors on mortality and morbidity in patients with heart failure. Collaborative Group on ACE Inhibitor Trials*. *JAMA*, 1995. **273**(18): p. 1450-6.
17. Hattori, Y., S. Atsushi, F. Hiroaki and J. Toyama, *Effects of cilazapril on ventricular arrhythmia in patients with congestive heart failure*. *Clin Ther*, 1997. **19**(3): p. 481-6.
18. Lindholm, L.H., B. Dahlöf, J.M. Edelman, H. Ibsen, K. Borch-Johnsen, M.H. Olsen, S. Snapinn, K. Wachtell and L.S. group, *Effect of losartan on sudden cardiac death in people with diabetes: data from the LIFE study*. *Lancet*, 2003. **362**(9384): p. 619-20.

19. Chugh, S.S., R. Havmoeller, K. Narayanan, D. Singh, M. Rienstra, E.J. Benjamin, R.F. Gillum, Y.H. Kim, J.H. McAnulty, Jr., Z.J. Zheng, M.H. Forouzanfar, M. Naghavi, G.A. Mensah, M. Ezzati, and C.J. Murray, *Worldwide epidemiology of atrial fibrillation: a Global Burden of Disease 2010 Study*. *Circulation*, 2014. **129**(8): p. 837-47.
20. Tadros, R., A.T. Ton, C. Fiset and S. Nattel, *Sex differences in cardiac electrophysiology and clinical arrhythmias: epidemiology, therapeutics, and mechanisms*. *Can J Cardiol*, 2014. **30**(7): p. 783-92.
21. Igarashi, T., J.E. Finet, A. Takeuchi, Y. Fujino, M. Strom, I.D. Greener, D.S. Rosenbaum and J.K. Donahue, *Connexin gene transfer preserves conduction velocity and prevents atrial fibrillation*. *Circulation*, 2012. **125**(2): p. 216-25.
22. Nattel, S., *New ideas about atrial fibrillation 50 years on*. *Nature*, 2002. **415**(6868): p. 219-26.
23. Dobrev, D., A. Friedrich, N. Voigt, N. Jost, E. Wettwer, T. Christ, M. Knaut and U. Ravens, *The G protein-gated potassium current $I(K,ACh)$ is constitutively active in patients with chronic atrial fibrillation*. *Circulation*, 2005. **112**(24): p. 3697-706.
24. Van Wagoner, D.R., A.L. Pond, M. Lamorgese, S.S. Rossie, P.M. McCarthy and J.M. Nerbonne, *Atrial L-type Ca^{2+} currents and human atrial fibrillation*. *Circ Res*, 1999. **85**(5): p. 428-36.
25. Yue, L., J. Feng, R. Gaspo, G.R. Li, Z. Wang and S. Nattel, *Ionic remodeling underlying action potential changes in a canine model of atrial fibrillation*. *Circ Res*, 1997. **81**(4): p. 512-25.

26. Kim, J., J. Gao, I.S. Cohen and R.T. Mathias, *Angiotensin II Type 1 Receptor-Mediated Electrical Remodeling in Mouse Cardiac Myocytes*. PLoS One, 2015. **10**(10): p. e0138711.
27. Domenighetti, A.A., C. Boixel, D. Cefai, H. Abriel and T. Pedrazzini, *Chronic angiotensin II stimulation in the heart produces an acquired long QT syndrome associated with IK1 potassium current downregulation*. J Mol Cell Cardiol, 2007. **42**(1): p. 63-70.
28. Mathieu, S., N. El Khoury, K. Rivard, R. Gelinas, P. Goyette, P. Paradis, M. Nemer and C. Fiset, *Reduction in Na(+) current by angiotensin II is mediated by PKCalpha in mouse and human-induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes*. Heart Rhythm, 2016. **13**(6): p. 1346-54.
29. Rivard, K., P. Paradis, M. Nemer and C. Fiset, *Cardiac-specific overexpression of the human type 1 angiotensin II receptor causes delayed repolarization*. Cardiovasc Res, 2008. **78**(1): p. 53-62.
30. Rivard, K., S.A. Grandy, A. Douillette, P. Paradis, M. Nemer, B.G. Allen and C. Fiset, *Overexpression of type 1 angiotensin II receptors impairs excitation-contraction coupling in the mouse heart*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2011. **301**(5): p. H2018-27.
31. Gaspo, R., R.F. Bosch, M. Talajic and S. Nattel, *Functional mechanisms underlying tachycardia-induced sustained atrial fibrillation in a chronic dog model*. Circulation, 1997. **96**(11): p. 4027-35.
32. Trepanier-Boulay, V., M.A. Lupien, C. St-Michel and C. Fiset, *Postnatal development of atrial repolarization in the mouse*. Cardiovasc Res, 2004. **64**(1): p. 84-93.

33. Brouillette, J., V. Trepanier-Boulay and C. Fiset, *Effect of androgen deficiency on mouse ventricular repolarization*. J Physiol, 2003. **546**(Pt 2): p. 403-13.
34. Holmes, A.P., T.Y. Yu, S. Tull, F. Syeda, S.M. Kuhlmann, S.M. O'Brien, P. Patel, K.L. Brain, D. Pavlovic, N.A. Brown, L. Fabritz, and P. Kirchhof, *A Regional Reduction in Ito and IKACH in the Murine Posterior Left Atrial Myocardium Is Associated with Action Potential Prolongation and Increased Ectopic Activity*. PLoS One, 2016. **11**(5): p. e0154077.
35. Ridler, M.E., M. Lee, D. McQueen, C. Peskin and E. Vigmond, *Arrhythmogenic consequences of action potential duration gradients in the atria*. Can J Cardiol, 2011. **27**(1): p. 112-9.
36. Jalife, J., O. Berenfeld and M. Mansour, *Mother rotors and fibrillatory conduction: a mechanism of atrial fibrillation*. Cardiovasc Res, 2002. **54**(2): p. 204-16.
37. Grandy, S.A., J. Brouillette and C. Fiset, *Reduction of ventricular sodium current in a mouse model of HIV*. J Cardiovasc Electrophysiol, 2010. **21**(8): p. 916-22.
38. Grandy, S.A., V. Trepanier-Boulay and C. Fiset, *Postnatal development has a marked effect on ventricular repolarization in mice*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2007. **293**(4): p. H2168-77.
39. Brouillette, J., R.B. Clark, W.R. Giles and C. Fiset, *Functional properties of K⁺ currents in adult mouse ventricular myocytes*. J Physiol, 2004. **559**(Pt 3): p. 777-98.
40. El Khoury, N., S. Mathieu and C. Fiset, *Interleukin-1beta reduces L-type Ca²⁺ current through protein kinase C activation in mouse heart*. J Biol Chem, 2014. **289**(32): p. 21896-908.

41. Mathieu, S., N. El Khoury, K. Rivard, P. Paradis, M. Nemer and C. Fiset, *Angiotensin II Overstimulation Leads to an Increased Susceptibility to Dilated Cardiomyopathy and Higher Mortality in Female Mice*. Sci Rep, 2018. **8**(1): p. 952.
42. Brouillette, J., K. Rivard, E. Lizotte and C. Fiset, *Sex and strain differences in adult mouse cardiac repolarization: importance of androgens*. Cardiovasc Res, 2005. **65**(1): p. 148-57.
43. Trepanier-Boulay, V., C. St-Michel, A. Tremblay and C. Fiset, *Gender-based differences in cardiac repolarization in mouse ventricle*. Circ Res, 2001. **89**(5): p. 437-44.
44. Sossalla, S., B. Kallmeyer, S. Wagner, M. Mazur, U. Maurer, K. Toischer, J.D. Schmitto, R. Seipelt, F.A. Schondube, G. Hasenfuss, L. Belardinelli, and L.S. Maier, *Altered Na⁽⁺⁾ currents in atrial fibrillation effects of ranolazine on arrhythmias and contractility in human atrial myocardium*. J Am Coll Cardiol, 2010. **55**(21): p. 2330-42.
45. Yue, L., P. Melnyk, R. Gaspo, Z. Wang and S. Nattel, *Molecular mechanisms underlying ionic remodeling in a dog model of atrial fibrillation*. Circ Res, 1999. **84**(7): p. 776-84.
46. Papadatos, G.A., P.M. Wallerstein, C.E. Head, R. Ratcliff, P.A. Brady, K. Benndorf, R.C. Saumarez, A.E. Trezise, C.L. Huang, J.I. Vandenberg, W.H. Colledge, and A.A. Grace, *Slowed conduction and ventricular tachycardia after targeted disruption of the cardiac sodium channel gene Scn5a*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2002. **99**(9): p. 6210-5.
47. Jalife, J., G.E. Morley and D. Vaidya, *Connexins and impulse propagation in the mouse heart*. J Cardiovasc Electrophysiol, 1999. **10**(12): p. 1649-63.
48. Gollob, M.H., *Begetting atrial fibrillation: Connexins and arrhythmogenesis*. Heart Rhythm, 2008. **5**(6): p. 888-91.

49. Chaldoupi, S.M., P. Loh, R.N. Hauer, J.M. de Bakker and H.V. van Rijen, *The role of connexin40 in atrial fibrillation*. Cardiovasc Res, 2009. **84**(1): p. 15-23.
50. Fan, J., L. Zou, K. Cui, K. Woo, H. Du, S. Chen, Z. Ling, Q. Zhang, B. Zhang, X. Lan, L. Su, B. Zrenner, and Y. Yin, *Atrial overexpression of angiotensin-converting enzyme 2 improves the canine rapid atrial pacing-induced structural and electrical remodeling*. Fan, *ACE2 improves atrial substrate remodeling*. Basic Res Cardiol, 2015. **110**(4): p. 45.
51. Wang, Y.H., C.X. Shi, F. Dong, J.W. Sheng and Y.F. Xu, *Inhibition of the rapid component of the delayed rectifier potassium current in ventricular myocytes by angiotensin II via the AT1 receptor*. Br J Pharmacol, 2008. **154**(2): p. 429-39.
52. Laszlo, R., C. Eick, N. Rueb, S. Weretka, H.J. Weig, J. Schreieck and R.F. Bosch, *Inhibition of the renin-angiotensin system: effects on tachycardia-induced early electrical remodelling in rabbit atrium*. J Renin Angiotensin Aldosterone Syst, 2008. **9**(3): p. 125-32.
53. Chaugai, S., W.Y. Meng and A. Ali Sepehry, *Effects of RAAS Blockers on Atrial Fibrillation Prophylaxis: An Updated Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials*. J Cardiovasc Pharmacol Ther, 2016. **21**(4): p. 388-404.
54. Andrade, J., P. Khairy, D. Dobrev and S. Nattel, *The clinical profile and pathophysiology of atrial fibrillation: relationships among clinical features, epidemiology, and mechanisms*. Circ Res, 2014. **114**(9): p. 1453-68.
55. Burstein, B. and S. Nattel, *Atrial fibrosis: mechanisms and clinical relevance in atrial fibrillation*. J Am Coll Cardiol, 2008. **51**(8): p. 802-9.

56. Tomaselli, G.F. and E. Marban, *Electrophysiological remodeling in hypertrophy and heart failure*. Cardiovasc Res, 1999. **42**(2): p. 270-83.
57. Yasuda, N., H. Akazawa, K. Ito, I. Shimizu, Y. Kudo-Sakamoto, C. Yabumoto, M. Yano, R. Yamamoto, Y. Ozasa, T. Minamino, A.T. Naito, T. Oka, I. Shiojima, K. Tamura, S. Umemura, P. Paradis, M. Nemer, and I. Komuro, *Agonist-independent constitutive activity of angiotensin II receptor promotes cardiac remodeling in mice*. Hypertension, 2012. **59**(3): p. 627-33.
58. Alvin, Z., G.G. Laurence, B.R. Coleman, A. Zhao, M. Hajj-Moussa and G.E. Haddad, *Regulation of L-type inward calcium channel activity by captopril and angiotensin II via the phosphatidyl inositol 3-kinase pathway in cardiomyocytes from volume-overload hypertrophied rat hearts*. Can J Physiol Pharmacol, 2011. **89**(3): p. 206-15.

Table I. Comparison of action potential and ECG parameters related to atrial conduction in CTL and AT1R mice.

50 days-old mice	CTL	AT1R
APA (mV)	109.7 ± 5.4 (15)	82.5 ± 4.8 (10)*
V _{max} (mV/ms)	88.2 ± 3.4 (15)	31.5 ± 4.8 (10)*
PR interval (ms)	31.1 ± 0.6 (11)	43.3 ± 0.9 (7)*
P-wave duration (ms)	10.2 ± 0.5 (11)	15.4 ± 0.8 (7)*

6 months-old mice	CTL	AT1R
APA (mV)	118.7 ± 2.6 (21)	109.0 ± 3.7 (15)*
V _{max} (mV/ms)	72.3 ± 3.4 (21)	42.3 ± 5.3 (15)*
PR interval (ms)	37.2 ± 1.5 (8)	47.8 ± 1.9 (8)*
P-wave duration (ms)	10.6 ± 0.3 (8)	19.8 ± 1.5 (8)*

Values are presented as mean ± SEM, with numbers of cells in parenthesis
 CTL = control; AT1R = angiotensin II type 1 receptor; APA = action potential amplitude;
 V_{max} = maximal velocity of the action potential upstroke. APA and V_{max} are obtained from
 left atrial myocytes.

*p < 0.05 vs. age-matched CTL

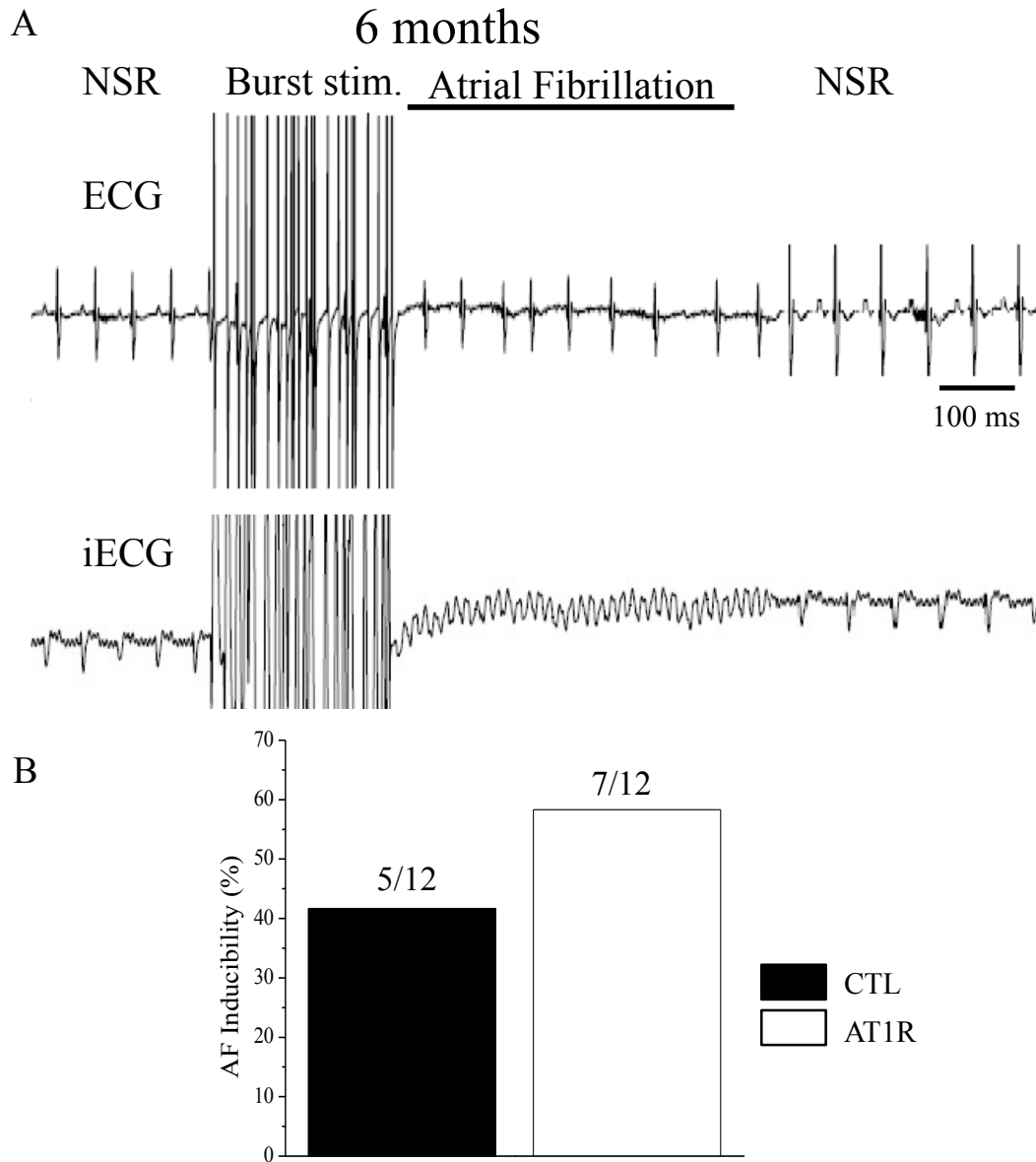


Figure 1. AT1R increases AF inducibility. (A) Typical recording of a surface ECG (lead I) (top) and intracardiac ECG (iECG) (bottom) in right atrium of 6 month-old male mice. AF is triggered following 8 atrial burst stimulations (Burst stim.) (1s at S1S1: 50-10 ms, 10 ms stepwise reduction repeated 26 times). Normal sinus rhythm (NSR) is restored after AF termination. (B) Bar graph shows AF inducibility (event >1s) (%) in CTL (42%) and overexpressing AT1R (58%) mice. The data shows that compared to CTL, AT1R mice tend to be more susceptible to AF events.

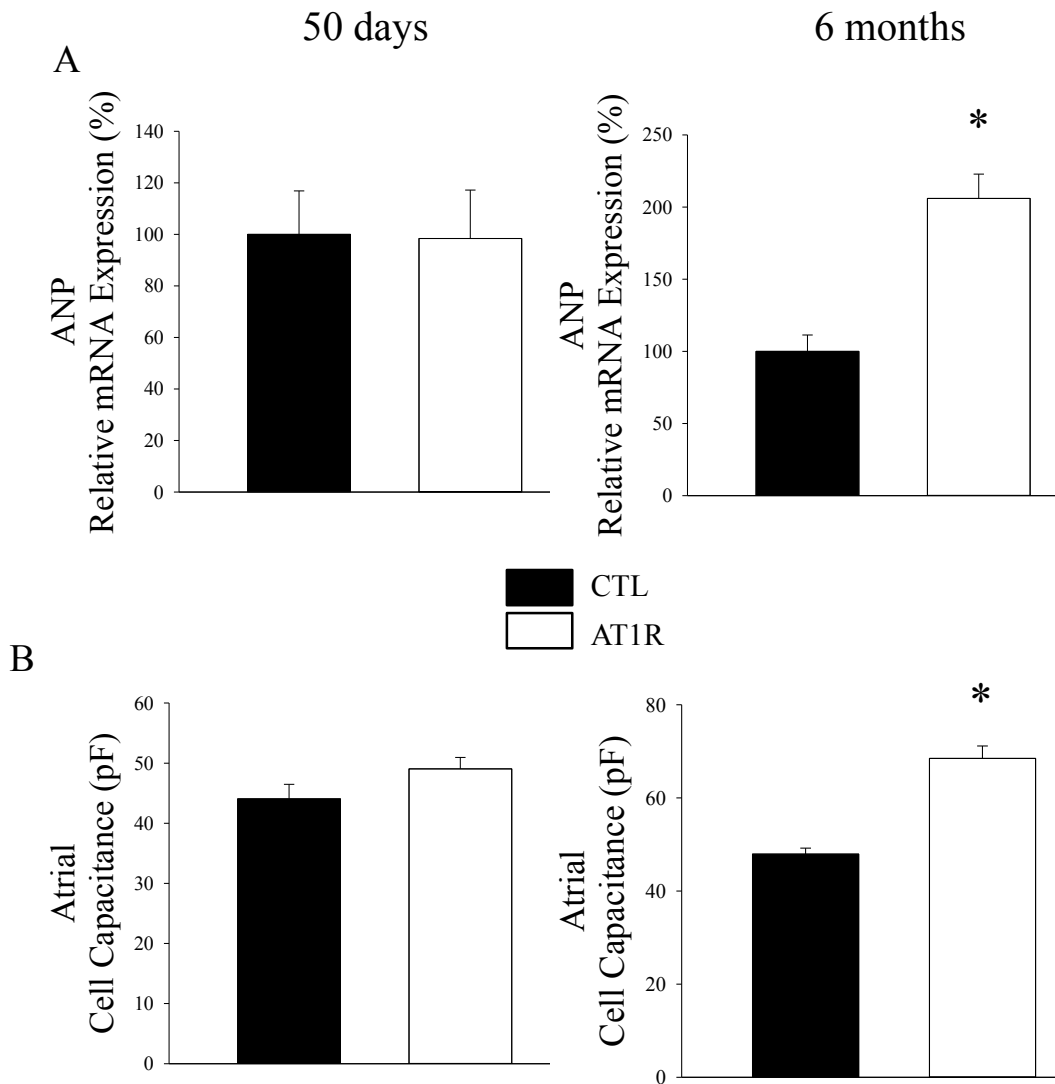


Figure 2. Atrial natriuretic peptide mRNA expression and cell capacitance in AT1R mice and age-matched littermate CTL. (A) Relative ANP mRNA expression (%) in left atrial tissues of AT1R (n = 4; N = 8) and CTL (n = 3; N = 6) in 50-day-and 6-month-old mice (*p<0.05) is used as a marker fibrosis. (B) Cellular hypertrophy is determined by measuring the cell capacitance in freshly isolated left atrial myocytes of 50-day-and 6-mo-old AT1R (50d: n = 25; 6 mo: n = 20) and CTL (50d: n = 17; 6 mo: n = 29) mice (*p<0.05). Hypertrophy is only observed in 6mo AT1R mice.

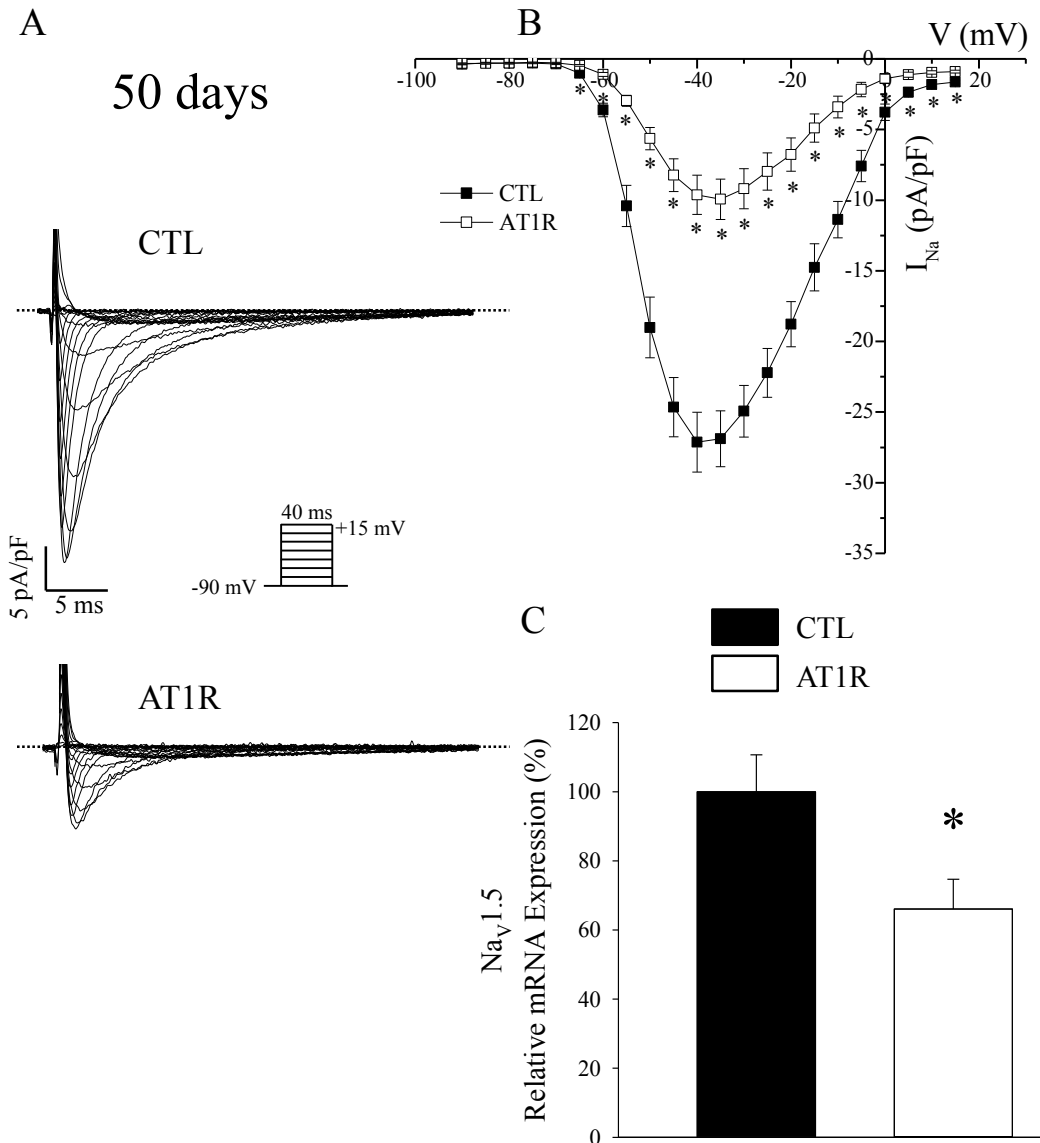


Figure 3. I_{Na} is reduced in left atrial myocytes from 50-day-old AT1R mice compared to age-matched littermate CTL. **(A)** Typical recordings of I_{Na} in freshly isolated left atrial myocytes of CTL (top) and AT1R (bottom) mice obtained with the voltage protocol shown in inset and dotted lines indicate zero current. **(B)** Mean I_{Na} current-voltage relationships show a reduction of I_{Na} in AT1R ($n = 14$, $N = 5$) vs CTL ($n = 13$, $N = 4$; $*p < 0.05$). **(C)** Bar graph presents a lower relative $Na_v1.5$ mRNA expression (%) in AT1R compared to CTRL left atrial tissues ($n = 4$; $N = 8$; $*p < 0.05$).

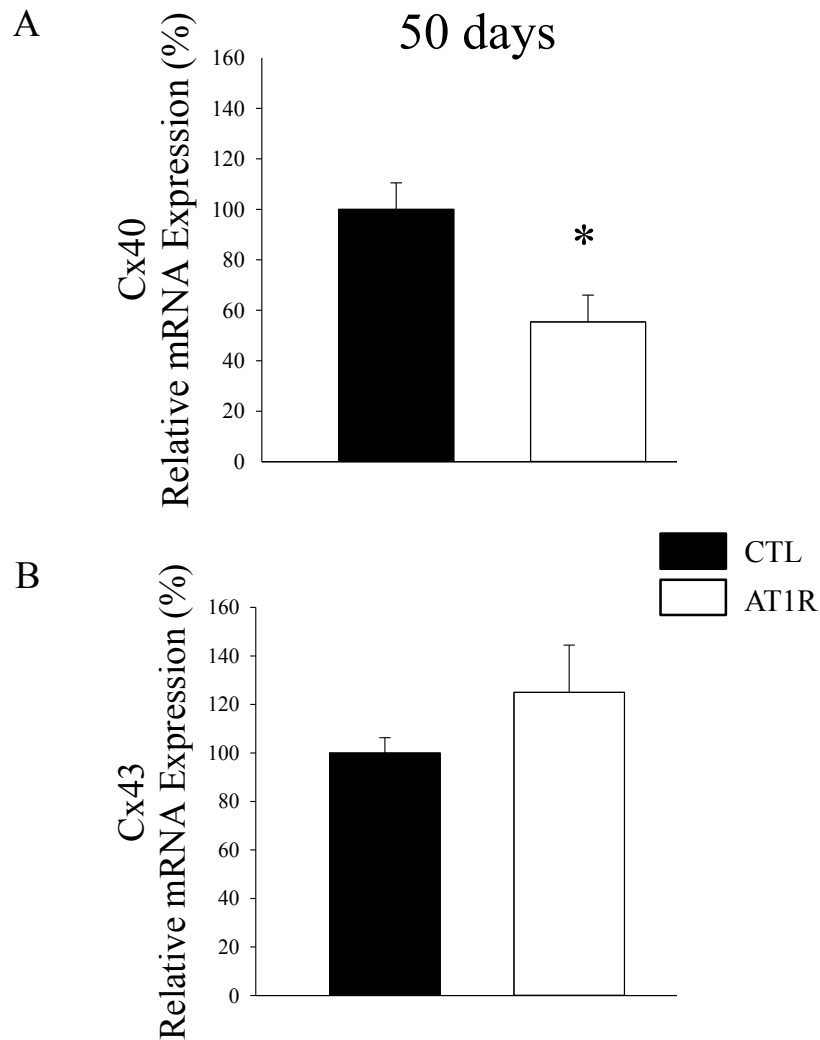


Figure 4. Cx40 mRNA expression is reduced in left atrial tissues isolated from 50-day-old AT1R mice compared to age-matched littermate CTL. (A) Relative Cx40 mRNA expression (%) in left atrial tissues is lower in AT1R (n = 4; N = 8) when compared to CTL mice (n = 3; N = 6; *p<0.05). **(B)** No difference is observed in relative Cx43 mRNA expression (%) in left atrial tissues between AT1R (n = 4; N = 8) and CTL mice (n = 3; N = 6).

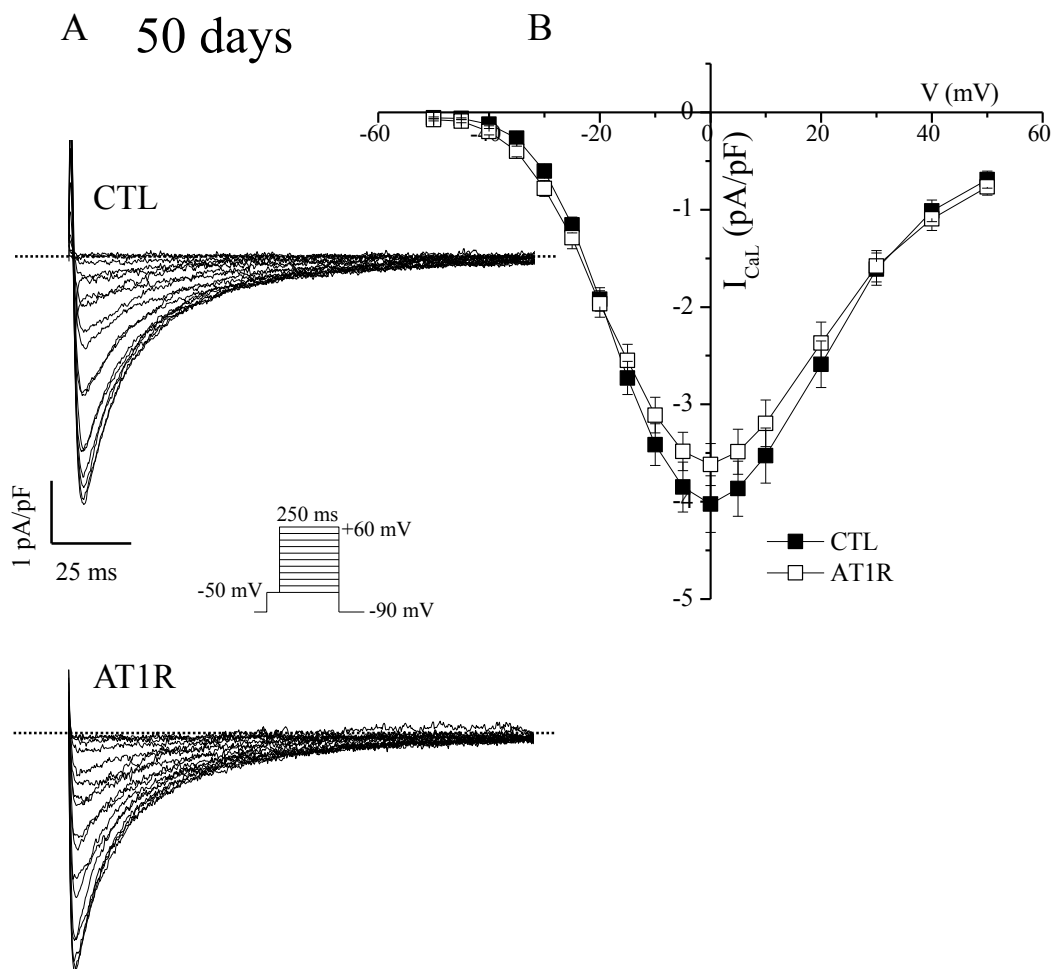


Figure 5. I_{CaL} is similar between left atrial myocytes of 50-day-old AT1R mice and age-matched littermate CTL. (A) Typical recordings of I_{CaL} in freshly isolated left atrial myocytes of CTL (top) and AT1R (bottom) mice obtained with the voltage protocol shown in inset and the dotted lines indicate zero current. **(D)** Mean I_{CaL} current-voltage relationships show no difference between the 2 groups (CTL: $n = 21$, $N = 7$; AT1R: $n = 25$, $N = 6$).

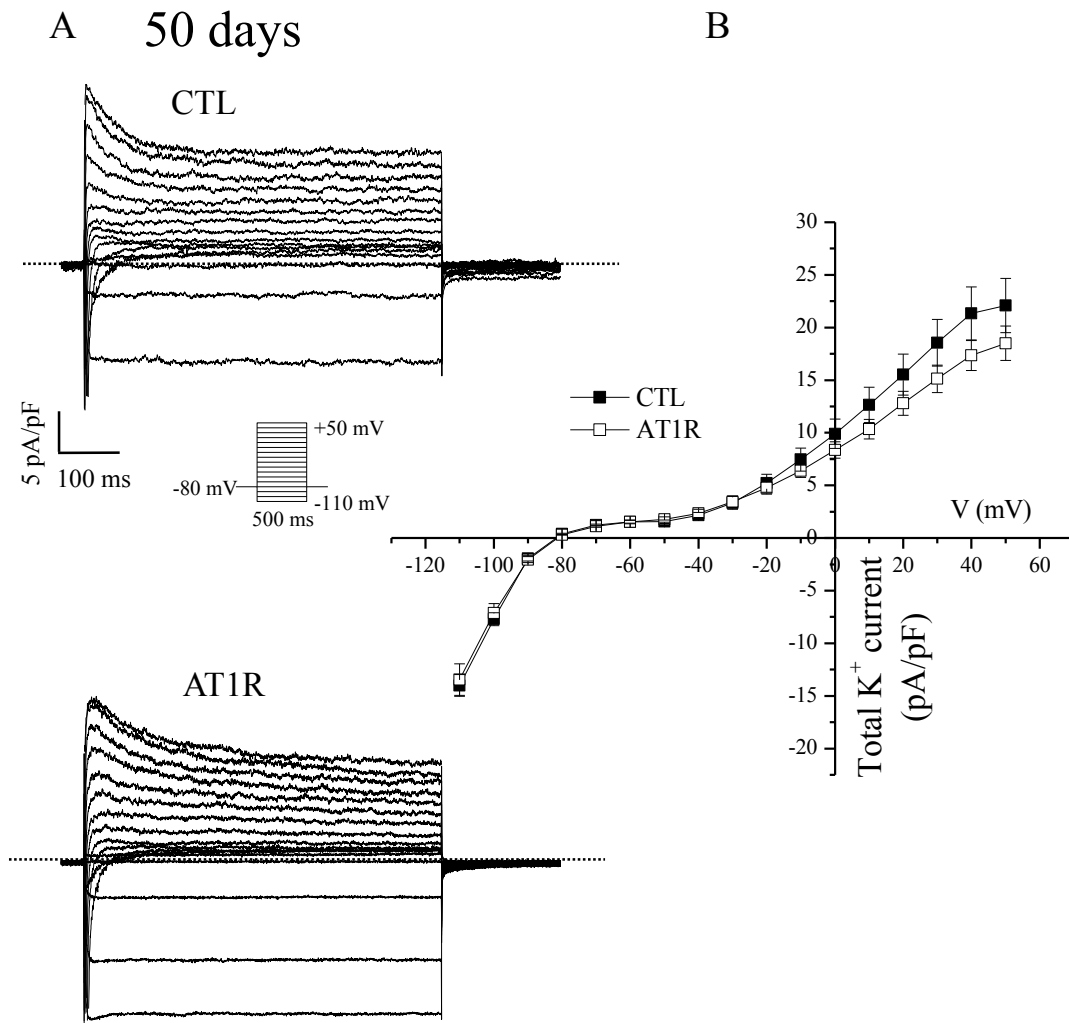


Figure 6. Total K⁺ current is similar between left atrial myocytes of 50-day-old AT1R mice and age-matched littermate CTL. (A) Typical recordings of total K⁺ currents in freshly isolated left atrial myocytes of CTL (top) and AT1R (bottom) mice obtained with the voltage protocol shown in inset and the dotted lines indicate zero current. **(B)** Mean total K⁺ current-voltage relationships show no difference between the 2 groups (CTL: n = 17, N = 5; AT1R: n = 13, N = 5).

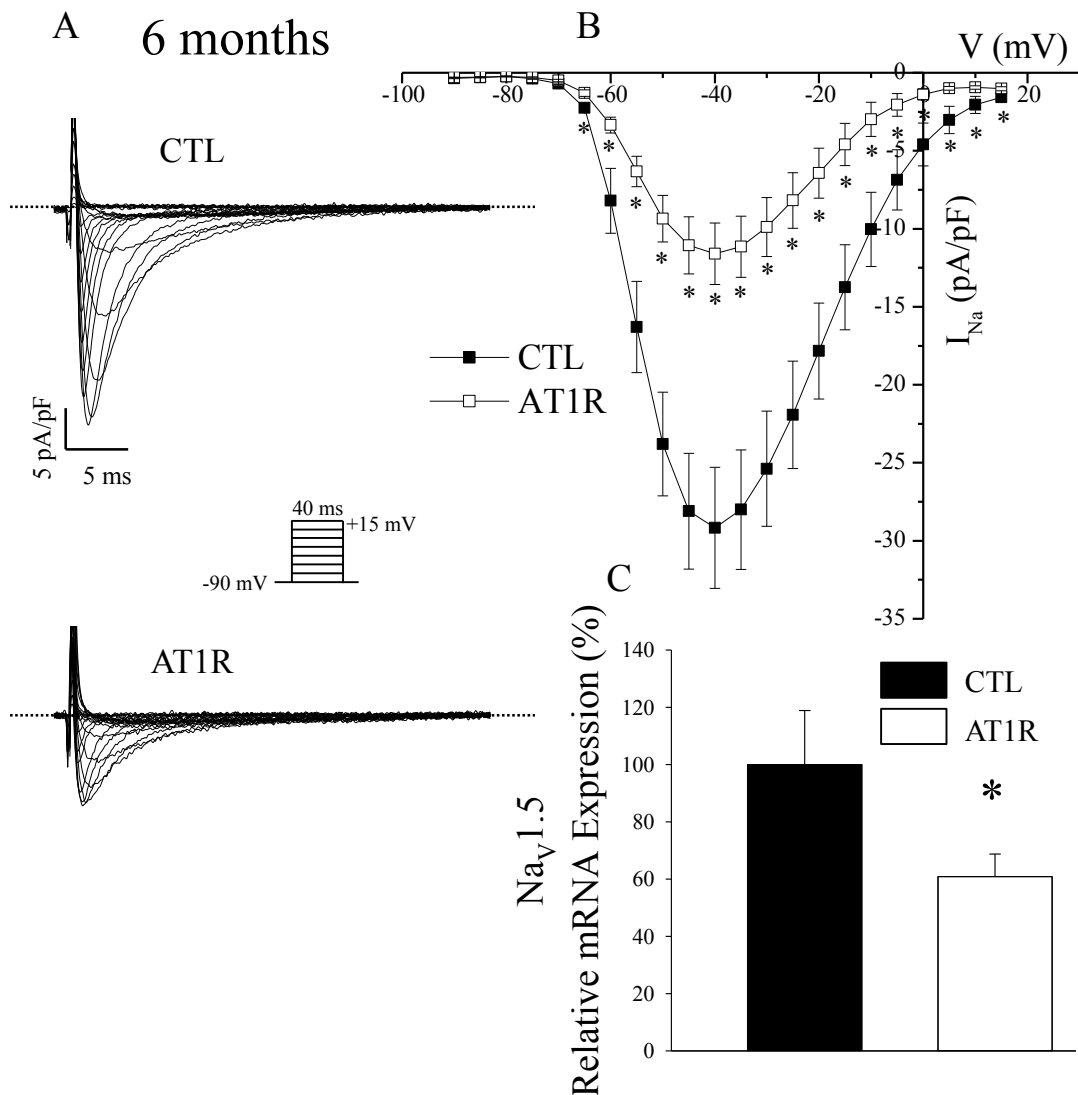


Figure 7. I_{Na} is reduced in left atrial myocytes of 6-month-old AT1R mice compared to age-matched littermate CTL. (A) Typical recordings of I_{Na} in freshly isolated left atrial myocytes of CTL (top) and AT1R (bottom) mice obtained with the voltage protocol shown in inset and the dotted lines indicate zero current. **(B)** Mean I_{Na} current-voltage relationships show a reduction in AT1R mice ($n = 15$, $N = 5$) compared to CTL ($n = 15$, $N = 4$) ($*p < 0.05$). **(C)** Bar graph presents a lower relative $Na_v1.5$ mRNA expression (%) in AT1R left atrial tissues compared to CTL ($n = 4$; $N = 8$; $*p < 0.05$).

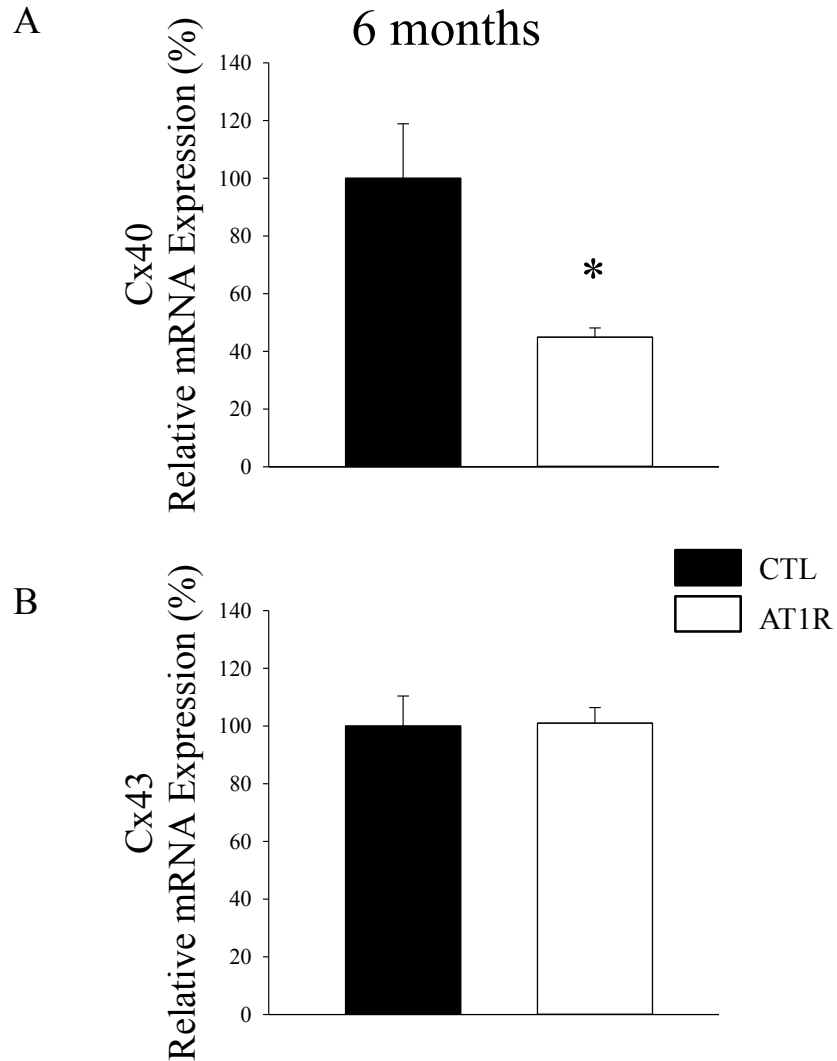


Figure 8. Cx40 mRNA expression is reduced in left atrial tissues isolated from 6-month-old AT1R mice compared to age-matched littermate CTL. (A) Reduced relative Cx40 mRNA expression (%) in left atrial tissues of AT1R (n=4/group) compared to CTL mice (n = 3/group; N = 8; *p<0.05). **(B)** No change in relative Cx43 mRNA expression (%) in left atrial tissues is seen between AT1R (n = 4; N = 8) and CTL mice (n = 3; N = 8).

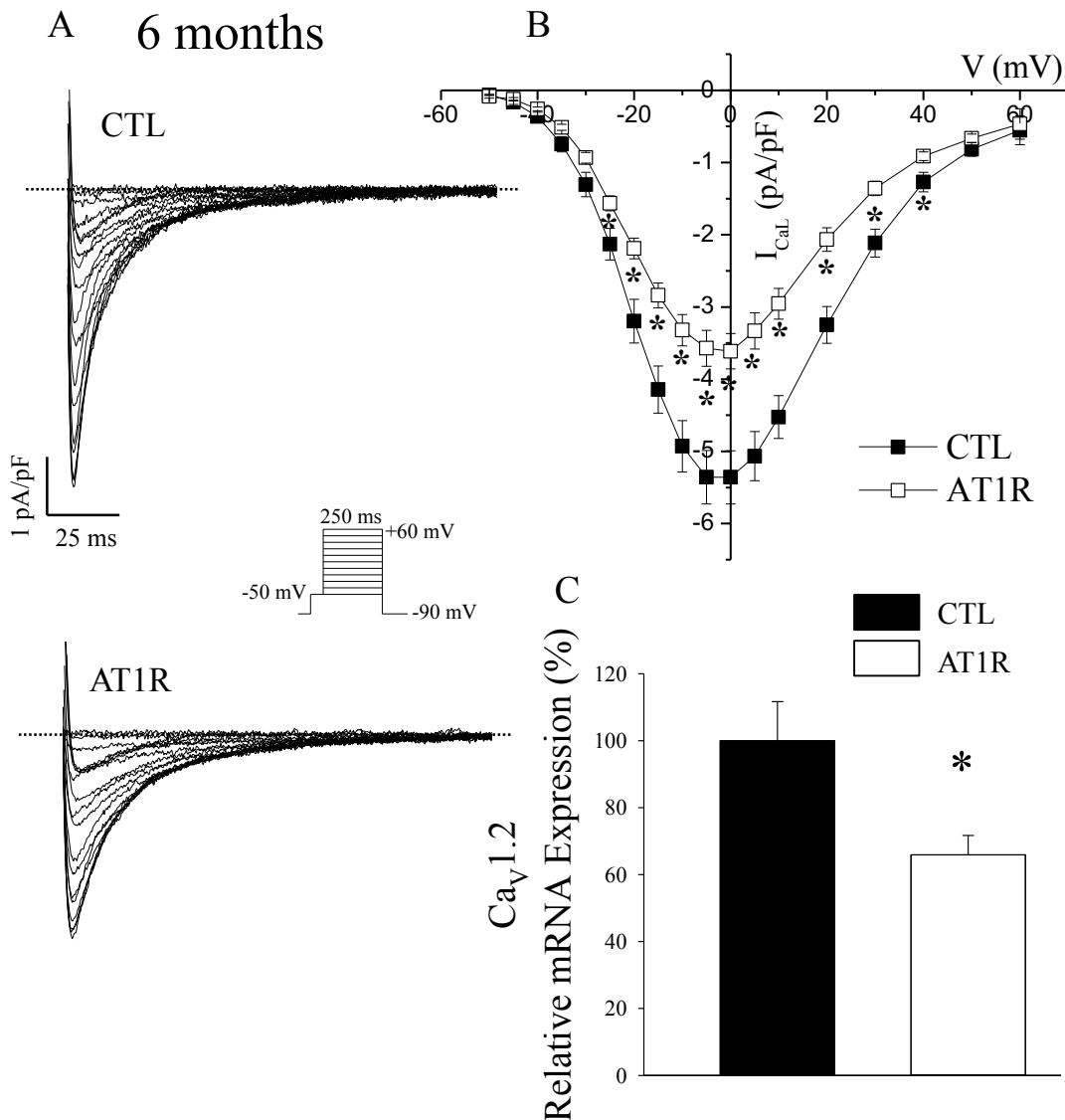


Figure 9. I_{CaL} is reduced in left atrial myocytes of 6-month-old AT1R mice compared to age-matched littermate CTL. (A) Typical recordings of I_{CaL} in freshly isolated left atrial myocytes of CTL (top) and AT1R (bottom) mice obtained with the voltage protocol shown in inset and the dotted lines indicate zero current. **(B)** Mean I_{CaL} current-voltage relationships show a reduction in AT1R mice ($n = 26$, $N = 6$) compared to CTL ($n = 28$, $N = 7$) ($*p < 0.05$). **(C)** Bar graph presents a lower relative $Ca_v1.2$ mRNA expression (%) in AT1R left atrial tissues compared to CTRL ($n = 4$; $N = 8$; $*p < 0.05$).

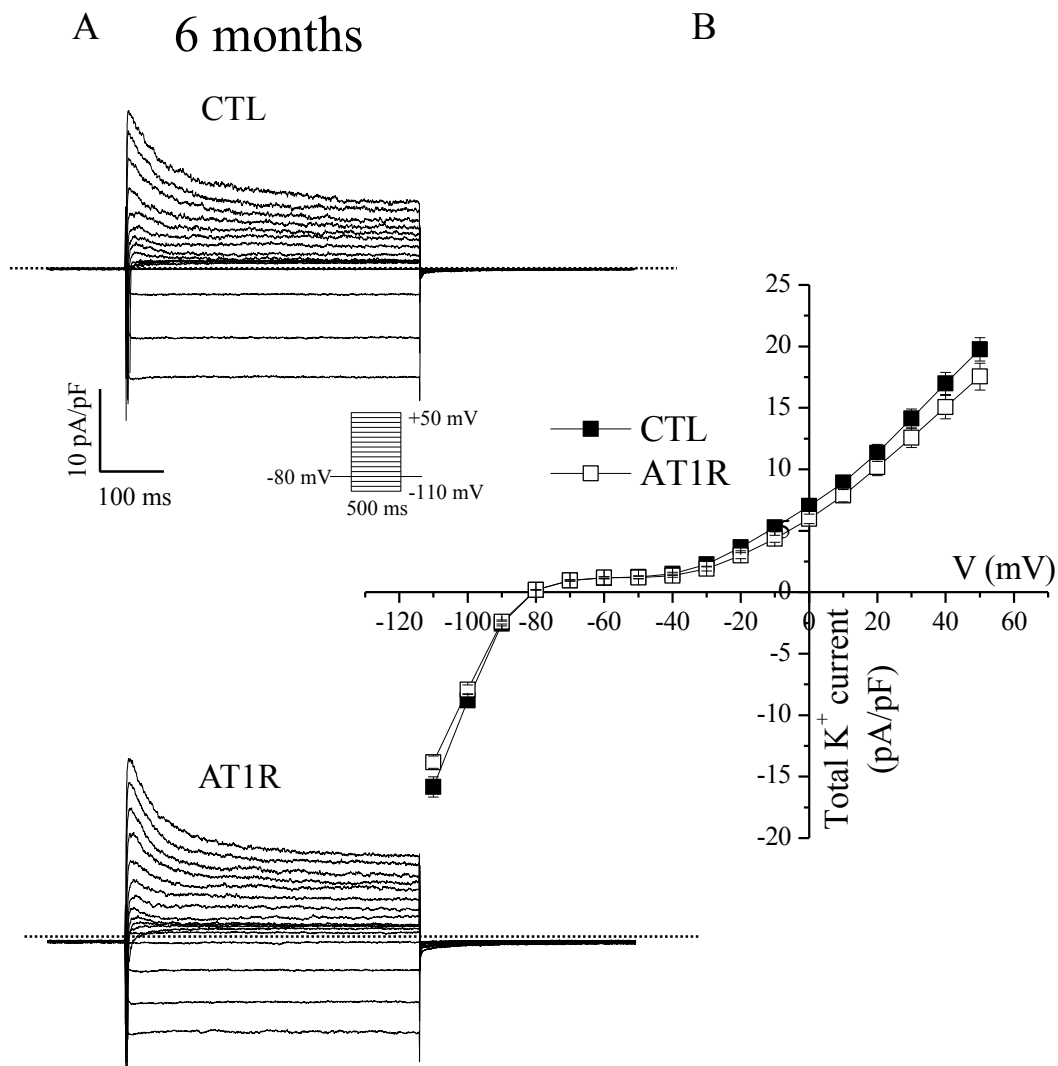


Figure 10. Total K⁺ current is similar between left atrial myocytes of 6-month-old AT1R mice and age-matched littermate CTL. (A) Typical recordings of total K⁺ current in freshly isolated left atrial myocytes of CTL (left) and AT1R (right) mice obtained with the voltage protocol shown in inset and the dotted lines indicate zero current. **(B)** Mean total K⁺ current-voltage relationships show no difference between the 2 groups (CTL: n = 39, N = 11; AT1R: n = 31, N = 14).

Article 2 : Influence du sexe dans la prévalence à la fibrillation auriculaire (en préparation)

Androgen Increases Atrial Fibrillation Susceptibility in Male Mouse Through Connexin 40 Remodeling

Ton Anh-Tuan^{1,2}, François Huynh^{1,2}, Anique Ducharme¹ and Fiset Celine^{1,2}.

¹Research Center, Montreal Heart Institute, Montreal, Quebec, Canada

²Faculty of Pharmacy, Université de Montréal, Montréal, Quebec, Canada

Corresponding author: Dr. Céline Fiset, Ph.D.
Research Center, Montreal Heart Institute
5000 Bélanger, Montréal, Québec, Canada, H1T 1C8
Phone : (514) 376-3330 (ext. 3025)
FAX : (514) 376-1355
E-mail : celine.fiset@umontreal.ca

Running title: Sex differences in atrial electrophysiological activity

Total word count: 4854 words

ABSTRACT

Atrial fibrillation (AF) is the most common sustained cardiac arrhythmia encountered in clinic, yet the cellular and molecular mechanisms behind the higher prevalence of AF in men have not been explored. Atrial remodeling is a critical process involved in the development of AF and includes changes in the electrophysiological and conduction properties of the atrium. In light of the higher male susceptibility to AF, we hypothesize that androgens play a major role in the regulation of the atrial electrical activity which could contribute to the increased prevalence of AF in men. Accordingly, the aims of this study were to identify electrophysiological substrates involved in this higher prevalence of AF in men and the role of androgens. Intracardiac electrical programmed stimulation studies showed that the occurrence of AF was higher in adult male mice of 4-5 months old (52.4%) than their age-matched females (25.0%) counterparts. Voltage-clamp experiments, done in the left atria (origin of AF), revealed that atrial Na⁺ and K⁺ currents were similar between both sexes, but the density of L-type Ca²⁺ current was 22.7% lower in females, which was consistent with Cav1.2 mRNA expression. Cx40 mRNA expression was 40% lower in male compared to female mice, while Cx43 was similar between the sexes. Finally, to assess the role of androgens in the male prevalence of AF, orchietomized mice (ORC) were also studied; ORC exhibited lower AF incidence (37.5%) and higher levels of Cx40 mRNA when compared to intact male mice. In summary, AF susceptibility is higher in male mice than female, consistent with clinical observations. Changes in ionic currents could not explain the male prevalence of AF. However, a lower Cx40 expression could contribute to their increased AF susceptibility. Overall, the data obtained in the ORC mice strongly support a role for androgens in the sex-related differences in AF susceptibility.

Keywords: Atrial fibrillation, Connexins, Androgens, Electrophysiology

ABBREVIATION

4-5mo	4 to 5-month-old
AF	atrial fibrillation
ANP	atrial natriuretic peptide
APD	action potential duration
Ca _v 1.2	α subunit of L-type Ca ²⁺ current
Cx	connexin
EPS	electrically programmed stimulations
I _{Ca}	L-type Ca ²⁺ current
iECG	intracardiac ECG
I _{K1}	inward rectifier K ⁺ current
I _{KAch}	G protein-gated inward rectifier K ⁺ current
I _{Kur}	ultra-rapid delayed rectifier K ⁺ current
I _{Na}	sodium current
I _{to}	Ca ²⁺ -independent transient outward K ⁺ current
Nav1.5	α subunit of the cardiac sodium channel
NSR	normal sinus rhythm
qPCR	quantitative polymerase chain reaction

INTRODUCTION

The severity and incidence of cardiac arrhythmias differ considerably between men and women; yet, only few clinical studies investigating sex-related differences in cardiac function are being reported.[1] For instance, women have a longer QTc interval than men which causes them to be more prone to develop torsades de pointes, a severe polymorphic ventricular tachyarrhythmia. On the other hand, men are more susceptible to develop arrhythmias such as Brugada syndrome, early repolarization syndrome, and atrial fibrillation (AF).[2-5]

Atrial fibrillation is the most frequent sustained arrhythmia encountered in clinical practice and its two most common independent risk factors are male sex and age. Worldwide, AF affects more than 33.5 million people and 62.4% of them are men.[6] Indeed, AF affects more than two times men than women. Also, AF prevalence increases with age, from 1-2% in the general population up to 10% in the elderly (>80 years old).[7] Finally, despite being a so-called benign rhythm disturbance, AF burden on the healthcare system is important, representing one third of hospitalizations related to cardiac arrhythmias, making AF an extremely costly medical condition.

Atrial fibrillation is defined as a very rapid and disorganised propagation of the electrical impulse within the atria, leading to loss of the atrio-ventricular synchrony. Atrial fibrillation can also lead to cardiovascular complications, morbidity and mortality.[8] First, an uncontrolled ventricular rate and irregular R-R intervals induced by atrial fibrillation can reduce cardiac contractility, even lowering the ejection fraction, and causing symptomatic heart failure.

Moreover, due to its chaotic rhythm and the absence of organized mechanical contraction, stasis can occur in the atria, causing accumulation of blood clots which can be dislodge, causing peripheral emboli and strokes. Indeed, patients with AF have three to five times more risk of having an ischemic stroke and it is estimated that 15% of all strokes are due to AF.[9]

A phenomenon called electrophysiological remodeling has been described to explain AF occurrence and maintenance.[10] It is characterized by a decrease in cardiac conduction velocity and shortening of the atrial action potential duration (APD) due to alterations of the balance between inward and outward ionic currents.[11] For instance, a reduction in APD through downregulation of L-type Ca^{2+} current (I_{CaL}) or increase of inward-rectifier K^+ currents (such as I_{K1} and I_{KAch}) has been associated with AF development.[12-15] Additionally, it has been reported that a decreased in Na^+ current (I_{Na}) is often associated with a decreased in APD and conduction velocity.[16-18] Of note, the ultra-rapid delayed rectifier K^+ current (I_{Kur}) that has been shown to be functional exclusively in the atria has been reported to be increased in patients with AF.[19-21] Moreover, previous experimental studies have shown that androgens regulate ventricular electrophysiological properties, suggesting that similar effect could occur in atrial myocytes.[22-24] Notably, we have found that androgen deficiency in mice leads to a reduction of ventricular I_{Kur} current density and its underlying K^+ channel ($\text{Kv}1.5$) mRNA expression.[25] Thus, changes in ionic channels can shorten the atrial APD by reducing Na^+ and Ca^{2+} currents, or increasing K^+ current and these electrophysiological remodelings can facilitate the appearance of re-entry phenomenon which contributes to the development of AF.

Connexins (Cx) are expressed in the plasma membrane of the cell and are located at the intercalated disks of cardiomyocytes. Cx from adjacent cardiomyocytes are longitudinally linked to each another by its extremity forming a gap junction. The Cx allow a link to be formed between the cytoplasmic compartment of adjacent cells and provide low-resistance pathways for electrical coupling between cardiomyocytes.[26] Hence, Cx are important in the perpetuation of the action potential from one cell to another [27]. In the mature murine heart, Cx43 is predominantly expressed in the ventricles; while Cx40 is the dominant Cx in the atrial myocytes.[28, 29] The initiation of AF has been associated with alterations in gap junction function by enhancing heterogeneous atrial conduction.[30, 31] Furthermore, mouse studies showed that altering Cx40 led to a predisposition to re-entrant arrhythmias and impaired propagation of depolarization through atrial tissues.[32-34] Therefore, reduction of connexin expression can contribute to the slower conduction velocity in the atria which can favor AF.

Considering that men are much more likely to suffer from AF and our previously reported regulation of ventricular ionic currents by androgens, we aim to investigate the relationship between androgens and the higher prevalence of AF in males. Our main finding reports that male mice have higher incidence of AF associated with a decreased expression of Cx40 and these effects are reversed in an androgen-deficient mouse.

METHODS

Animals

Four- to five-month-old adult CD-1 male and female mice were used in this study. We used young adult mice in order to separate the two common risk factors of AF (age and sex). CD-1 strains of mice were chosen because of their vigorous reproductive activity associated with physiological levels of testosterone when compared to other mouse strains.[35, 36]

To study the effects of androgens, 30-days old mice were castrated, just before sexual maturity and kept for 3 months, long enough for the absence of androgen to significantly regulate the cardiac electrophysiological properties.[25] ORC mice were subjected to a bilateral removal of the testis through a ventral midline skin incision. All experiments were performed in accordance to the guidelines of the Canadian Council on Animal Care and the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals published by the National Research Council (8th ed. National Academies 2011). Experiments were also approved by the Montreal Heart Institute Animal Care Committee (Protocol 2015-80-03).

Mouse atrial myocyte isolation

Single atrial myocytes isolation protocol has been described in the previous manuscript. For electrophysiological experimental studies, only rod-shaped myocytes from the left atrium were used as they have been shown to be more susceptible to AF.[37-39]

Cellular electrophysiology

Electrophysiological protocols to measure Na⁺, K⁺ and Ca²⁺ currents were performed as described in the previous manuscript.

Quantitative polymerase chain reaction (qPCR)

Reverse transcription and qPCR for the α subunit of Cav1.2, Cx40, and Cx43 was performed on left atrial total RNA as previously described (first paper).

Electrically programmed stimulations (EPS) studies

In vivo studies were performed under 2% isoflurane anesthesia and all electrically programmed stimulations studies were achieved using similar protocol to the first paper in this thesis.

Statistical analysis

All the results are expressed as mean \pm standard error of the mean. An unpaired two-tailed Student's *t*-test or a one-way ANOVA were used when appropriate. The post test used was Tukey's HSD (highest significant difference). Statistical analysis was performed using Origin 8.0 (OriginLab Corporation). A p-value inferior to 0.05 was considered statistically significant and n equals the number of cells or atria, while N equals the number of mice.

RESULTS

Male mice are more susceptible to atrial fibrillation than female mice

To determine whether the male prevalence of AF found in human was also observed in mice, we used electrical programmed stimulation (EPS) protocols to trigger AF in adult male and female mice of 4-5mo. By using mice at this age, it allowed us to separate sex and age, two major risk factors of AF. Figure 1A was a representative recording of intracardiac ECG (iECG) and lead I surface ECG obtained following electrical stimulation of the right atria. Panel B of Figure 1 displayed the higher susceptibility of AF events (>1s) in male mice (11 out of 21 mice; 52.4%) compared to female (6 mice out of 24; 25%). In these experiments, arrhythmic events had to last more than 1 second and be repeated at least once during the protocol to be considered as atrial fibrillation. These results showed that mouse replicates the male-female preponderance ratio of AF seen in humans.

Ionic current density comparison between male and female mice

Changes in ionic currents leading to alterations of action potential durations are often reported in AF patients. First, I_{Na} , I_{CaL} and total K^+ currents were measured using voltage-clamp techniques on freshly isolated left atrial myocytes from male and female mice. Current-voltage (I-V) relationships of I_{Na} shown in Figure 2 displayed no difference between both sexes (at -35 mV; Male: -20.3 ± 2.1 pA/pF; n = 11, N = 3; Female: -19.1 ± 2.2 pA/pF; n = 13, N = 3; P = NS). Similarly, voltage-clamp experiments summarized in Figure 3 showed no difference in the outward K^+ current density (at +30 mV; Male: 20.5 ± 2.8 pA/pF, n = 13, N = 5; Female: 21.4 ± 1.0 pA/pF, n = 26, N = 9; p = NS) nor in the inward K^+ current density between both sexes (at -

110 mV; Male: -12.7 ± 0.9 pA/pF, n = 13, N = 5; Female: -13.8 ± 0.8 pA/pF; n = 26, N = 9; p = NS). Quantitative PCR (qPCR) experiments measuring Nav1.5 (I_{Na}) and individual K⁺ channels expression showed that mRNA expression of all the ion channels α -subunits underlying the Na⁺ and different K⁺ currents were comparable in atrial tissues from male and female mice, consistent with the electrophysiological data (supplemental Figure 1). Data reported from Figure 4 illustrated a higher density of I_{CaL} in male (at -5 mV; -7.5 ± 0.5 pA/pF, n = 14, N = 5) compared to female mice (-5.8 ± 0.6 pA/pF, n = 14, N = 5, p < 0.05). Additionally, our qPCR analysis was consistent with the electrophysiological data, as male had 40% higher Cav1.2 mRNA expression than female mice (Figure 4C).

Comparison of connexin 40 and 43 expressions between male and female mice

In addition to comparing ion channels and their underlying α -subunit channels that contribute to the action potential configuration, we also examined the mRNA expression of Cx40 and Cx43 between male and female mice. Indeed, Cx also contribute to conduction velocity of the atria, which play an important role in the onset of AF. Therefore, using qPCR, Figure 5 showed that Cx40 mRNA expression in left atrial tissues was 45% lower in male compared to female mice; whereas, no observable difference in Cx43 mRNA expression was reported between both sexes.

Influence of androgens on atrial fibrillation susceptibility

Previously, we showed that orchietomized male mice (ORC) have low plasma concentration of androgens compared to intact males.[25] Therefore, we used ORC mice to assess the implication of androgens in the higher AF susceptibility in male mice. Data reported in Figure

6 clearly demonstrated that after orchietomy, ORC mice (6 mice out of 16; 37.5%) had less events of AF than intact males (52.4%).

In parallel, results reported in Figure 7 showed that the level of Cx40 mRNA in ORC mice was similar to levels found in female mice, which were higher than values reported in the intact male mice. Finally, Cx43 expressions levels were unchanged between the three groups. These results strongly suggest an association between androgen and the lower expression of Cx40 in the left atria of intact male mice and the higher risk of developing atrial fibrillation.

DISCUSSION

Using young adults male, female, and orchietomized male mice, we investigated the molecular mechanisms and substrates involved in the higher incidence of atrial fibrillation in males compared to females. First, similar to clinical observations, our data showed that male mice susceptibility to AF was two times higher than female mice. Second, our study established that this higher prevalence of AF in male mice was not associated to a difference in atrial ionic currents but was rather linked to a lower mRNA expression of connexin 40 in the atrial tissue. Finally, we also showed that androgen seems to be implicated in the higher susceptibility to AF found in male mice, as orchietomized mice showed less events of atrial fibrillation and more connexin 40 mRNA expression than intact males.

Ionic currents are not responsible for the higher prevalence of atrial fibrillation

In this study, we demonstrated that Na^+ and K^+ currents were similar between both sexes; whereas, male mice displayed a higher I_{CaL} density than females, consistent with a higher $\text{Ca}_v1.2$ mRNA expression in males. Conversely, clinical observations suggested that atrial fibrillation is associated with a decreased I_{CaL} density.[11] This apparent discrepancy can be explained by the fact that these clinical findings were observed in patients already suffering of atrial fibrillation, while our experiments were carried out in a healthy mouse model. It is, therefore, plausible that the decreased I_{CaL} seen following atrial fibrillation is a compensatory mechanism,[40] consistent with the electrophysiological remodeling hypothesis. In presence of AF, patients often displayed atrial Ca^{2+} overload due to the higher frequency of atrial contraction causing increased intracellular concentration of Ca^{2+} . Also, the higher heart rate does not allow

the Ca^{2+} to be fully extruded from the cytosol after each contraction. Consequently, to normalize intracellular Ca^{2+} level, the myocytes compensate by decreasing the mRNA expression of $\text{Ca}_v1.2$, which can explain the lower I_{CaL} density reported in AF patients when compared to healthy subjects.

Similarly, it has been reported that K^+ currents remodeling (such as I_{Kur} , I_{to} , I_{K1} , and I_{KACH}) was observed in patients with AF. These changes in K^+ currents often led to decreased duration of action potential and refractory period, which favor reentry development. Currently, drugs reducing the atrial-specific K^+ channel ($\text{K}_v1.5$) are being developed to reduce the occurrence of AF clinically.[41] Although several studies demonstrated the importance of K^+ channels in the pathology of AF, we did not report any differences in total K^+ current between male and female mice in this study. As aforementioned, all the clinical observations reported in AF patients could be a consequence of a compensatory mechanisms following the development of AF, whereas the mice used in this study were healthy. This would explain the difference between the literature and our data. Overall, this study suggested that electrophysiological data differences between both sexes were not substrates predisposing young males to higher atrial fibrillation events.

Role of connexins in atrial fibrillation

Several evidence suggested a role for a reduction of connexins in the development of atrial fibrillation.[42] Indeed, Cx40 expression was often decreased during AF which facilitates re-entrant circuits.[43-45] Clinical studies showed that protein and genetic changes of Cx40 has been observed in patients with AF. Also, in Cx40-KO animal models, conduction velocity was

reduced which led to an increased heterogeneity in the electrical impulse of the atria.[34] Furthermore, our finding showed a lower mRNA expression of Cx40 in males, which was consistent with the increased risk of AF observed in our mouse model. Moreover, our results displayed no difference in Cx43 mRNA expression between both sexes. This finding was consistent with previous reports demonstrating that Cx40 is the dominant connexin expressed in the atria. Finally, modulation in gap junction expression, specifically Cx40, can enhance heterogeneous atrial conduction leading to an increased vulnerability to AF.

Influence of androgens in atrial fibrillation and Cx40 expression

Unlike our previous findings in the ventricles, androgens did not regulate atrial K⁺ currents, indicating a different mechanism of regulation between the ventricles and the atria. However, based on the result (increased susceptibility to AF and reduced Cx40 expression in male compared to female mice), we decided to use a mouse model with reduced levels of male sex hormones to show the impact of androgens, independently of age, on the higher susceptibility to atrial fibrillation. Our data demonstrated that in the mouse model with a reduced level of androgen, the susceptibility to AF was decreased. Previously, an extensive set of cellular and *in vivo* studies have demonstrated that steroids and other ligands of nuclear hormone receptors can acutely regulate gap junction communication in a physiologically appropriate manner. For example, it has been reported that thyroid hormones upregulate the expression of Cx40 transcripts in mouse atria.[46] Other studies have demonstrated the influence of androgens on connexin expression and function in other tissues. For instance, in bladder carcinoma cell lines, testosterone and dihydrotestosterone inhibit gap junction-mediated intercellular

communications.[47] Accordingly, our data showed that Cx40 expression was inversely regulated by androgens, where androgen deficiency in orchietomized mice resulted in a higher level of atrial Cx40 expression, similar to female, when compared to intact male mice. This study showed that independently of age, male sex was a risk factor of atrial fibrillation and it was associated with a lower Cx40 expression, which was considered as a substrate contributing to the higher predisposition of men to atrial fibrillation.

CONCLUSION

In conclusion, the results presented here strongly suggest a role of male sex hormones in the higher male susceptibility to atrial fibrillation which was associated with a lower Cx40 mRNA expression. Currently, the therapeutic strategies regarding atrial fibrillation are identical between men and women. However, these series of experiments may give valuable information regarding atrial remodeling in mice and how parallels can be made between mice and humans in the sex-related differences in atrial fibrillation.

FUNDING

This work was supported by Canadian Institutes of Health Research Grant MOP-64344, MOP-142727, PJT-153069. Dr. Ducharme holds the University of Montreal chair Fondation Marcelle et Jean Coutu, Cal and Janine Moisan for better practices in advanced heart failure.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are thankful to N. Ethier, M-A. Gillis, S. Thibault, V. Long, N. Duquette, V. Durocher-Granger and C. Guinard for skilled technical assistance.

CONFLICT OF INTEREST

No conflicts of interest, financial or otherwise, are declared by the authors.

REFERENCES

1. Gillis, A.M., *Atrial Fibrillation and Ventricular Arrhythmias: Sex Differences in Electrophysiology, Epidemiology, Clinical Presentation, and Clinical Outcomes*. *Circulation*, 2017. **135**(6): p. 593-608.
2. Tadros, R., A.T. Ton, C. Fiset and S. Nattel, *Sex differences in cardiac electrophysiology and clinical arrhythmias: epidemiology, therapeutics, and mechanisms*. *Can J Cardiol*, 2014. **30**(7): p. 783-92.
3. Odening, K.E. and G. Koren, *How do sex hormones modify arrhythmogenesis in long QT syndrome? Sex hormone effects on arrhythmogenic substrate and triggered activity*. *Heart Rhythm*, 2014. **11**(11): p. 2107-15.
4. Kurokawa, J., M. Kodama, C.E. Clancy and T. Furukawa, *Sex hormonal regulation of cardiac ion channels in drug-induced QT syndromes*. *Pharmacol Ther*, 2016. **168**: p. 23-28.
5. Peters, R.W. and M.R. Gold, *The influence of gender on arrhythmias*. *Cardiol Rev*, 2004. **12**(2): p. 97-105.
6. Chugh, S.S., R. Havmoeller, K. Narayanan, D. Singh, M. Rienstra, E.J. Benjamin, R.F. Gillum, Y.H. Kim, J.H. McAnulty, Jr., Z.J. Zheng, M.H. Forouzanfar, M. Naghavi, G.A. Mensah, M. Ezzati, and C.J. Murray, *Worldwide epidemiology of atrial fibrillation: a Global Burden of Disease 2010 Study*. *Circulation*, 2014. **129**(8): p. 837-47.
7. American College of Cardiology, F., A. American Heart, C. European Society of, S. Heart Rhythm, L.S. Wann, A.B. Curtis, K.A. Ellenbogen, N.A. Estes, M.D. Ezekowitz, W.M. Jackman, C.T. January, J.E. Lowe, R.L. Page, D.J. Slotwiner, W.G. Stevenson, C.M. Tracy, V. Fuster, L.E. Ryden, D.S. Cannom, H.J. Crijns, A.B. Curtis, K.A. Ellenbogen, J.L. Halperin, J. Le Heuzey, G.N. Kay, J.E. Lowe, S.B. Olsson, E.N. Prystowsky, J.L. Tamargo, and L.S. Wann, *Management of patients with atrial fibrillation (compilation of 2006 ACCF/AHA/ESC and 2011*

- ACCF/AHA/HRS recommendations): a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on practice guidelines. *Circulation*, 2013. **127**(18): p. 1916-26.
8. Reiffel, J.A., *Atrial fibrillation and stroke: epidemiology*. *Am J Med*, 2014. **127**(4): p. e15-6.
 9. Wolfe, C.D., N.A. Taub, E.J. Woodrow and P.G. Burney, *Assessment of scales of disability and handicap for stroke patients*. *Stroke*, 1991. **22**(10): p. 1242-4.
 10. Nattel, S., B. Burstein and D. Dobrev, *Atrial remodeling and atrial fibrillation: mechanisms and implications*. *Circ Arrhythm Electrophysiol*, 2008. **1**(1): p. 62-73.
 11. Dobrev, D., L. Carlsson and S. Nattel, *Novel molecular targets for atrial fibrillation therapy*. *Nat Rev Drug Discov*, 2012. **11**(4): p. 275-91.
 12. Yue, L., J. Feng, R. Gaspo, G.R. Li, Z. Wang and S. Nattel, *Ionic remodeling underlying action potential changes in a canine model of atrial fibrillation*. *Circ Res*, 1997. **81**(4): p. 512-25.
 13. Cha, T.J., J.R. Ehrlich, D. Chartier, X.Y. Qi, L. Xiao and S. Nattel, *Kir3-based inward rectifier potassium current: potential role in atrial tachycardia remodeling effects on atrial repolarization and arrhythmias*. *Circulation*, 2006. **113**(14): p. 1730-7.
 14. Dobrev, D., A. Friedrich, N. Voigt, N. Jost, E. Wettwer, T. Christ, M. Knaut and U. Ravens, *The G protein-gated potassium current $I(K,ACh)$ is constitutively active in patients with chronic atrial fibrillation*. *Circulation*, 2005. **112**(24): p. 3697-706.
 15. Dobrev, D., E. Graf, E. Wettwer, H.M. Himmel, O. Hala, C. Doerfel, T. Christ, S. Schuler and U. Ravens, *Molecular basis of downregulation of G-protein-coupled inward rectifying $K(+)$ current ($I(K,ACh)$) in chronic human atrial fibrillation: decrease in GIRK4 mRNA correlates with reduced $I(K,ACh)$ and muscarinic receptor-mediated shortening of action potentials*. *Circulation*, 2001. **104**(21): p. 2551-7.
 16. Wan, E., J. Abrams, R.L. Weinberg, A.N. Katchman, J. Bayne, S.I. Zakharov, L. Yang, J.P. Morrow, H. Garan and S.O. Marx, *Aberrant sodium influx causes cardiomyopathy and atrial fibrillation in mice*. *J Clin Invest*, 2016. **126**(1): p. 112-22.

17. Bosch, R.F., X. Zeng, J.B. Grammer, K. Popovic, C. Mewis and V. Kuhlkamp, *Ionic mechanisms of electrical remodeling in human atrial fibrillation*. Cardiovasc Res, 1999. **44**(1): p. 121-31.
18. Olson, T.M., V.V. Michels, J.D. Ballew, S.P. Reyna, M.L. Karst, K.J. Herron, S.C. Horton, R.J. Rodeheffer and J.L. Anderson, *Sodium channel mutations and susceptibility to heart failure and atrial fibrillation*. JAMA, 2005. **293**(4): p. 447-54.
19. Fedida, D., B. Wible, Z. Wang, B. Fermini, F. Faust, S. Nattel and A.M. Brown, *Identity of a novel delayed rectifier current from human heart with a cloned K⁺ channel current*. Circ Res, 1993. **73**(1): p. 210-6.
20. Schmitt, N., M. Grunnet and S.P. Olesen, *Cardiac potassium channel subtypes: new roles in repolarization and arrhythmia*. Physiol Rev, 2014. **94**(2): p. 609-53.
21. Schotten, U., S. Verheule, P. Kirchhof and A. Goette, *Pathophysiological mechanisms of atrial fibrillation: a translational appraisal*. Physiol Rev, 2011. **91**(1): p. 265-325.
22. Valverde, E.R., M.O. Biagetti, G.R. Bertran, P.D. Arini, H. Bidoggia and R.A. Quintero, *Developmental changes of cardiac repolarization in rabbits: implications for the role of sex hormones*. Cardiovasc Res, 2003. **57**(3): p. 625-31.
23. Bai, C.X., J. Kurokawa, M. Tamagawa, H. Nakaya and T. Furukawa, *Nontranscriptional regulation of cardiac repolarization currents by testosterone*. Circulation, 2005. **112**(12): p. 1701-10.
24. Fulop, L., T. Banyasz, G. Szabo, I.B. Toth, T. Biro, I. Lorincz, A. Balogh, K. Peto, I. Miko and P.P. Nanasi, *Effects of sex hormones on ECG parameters and expression of cardiac ion channels in dogs*. Acta Physiol (Oxf), 2006. **188**(3-4): p. 163-71.
25. Brouillette, J., V. Trepanier-Boulay and C. Fiset, *Effect of androgen deficiency on mouse ventricular repolarization*. J Physiol, 2003. **546**(Pt 2): p. 403-13.

26. Verheule, S. and S. Kaese, *Connexin diversity in the heart: insights from transgenic mouse models*. Front Pharmacol, 2013. **4**: p. 81.
27. Hsieh, M.H., Y.J. Lin, H.H. Wang, L.W. Lo, S.L. Chang, Y.L. Yan, T.Y. Chou, S.A. Chen and H.I. Yeh, *Functional characterization of atrial electrograms in a pacing-induced heart failure model of atrial fibrillation: importance of regional atrial connexin40 remodeling*. J Cardiovasc Electrophysiol, 2013. **24**(5): p. 573-82.
28. Jalife, J., G.E. Morley and D. Vaidya, *Connexins and impulse propagation in the mouse heart*. J Cardiovasc Electrophysiol, 1999. **10**(12): p. 1649-63.
29. van Veen, A.A., H.V. van Rijen and T. Opthof, *Cardiac gap junction channels: modulation of expression and channel properties*. Cardiovasc Res, 2001. **51**(2): p. 217-29.
30. Gollob, M.H., *Cardiac connexins as candidate genes for idiopathic atrial fibrillation*. Curr Opin Cardiol, 2006. **21**(3): p. 155-8.
31. Gollob, M.H., D.L. Jones, A.D. Krahn, L. Danis, X.Q. Gong, Q. Shao, X. Liu, J.P. Veinot, A.S. Tang, A.F. Stewart, F. Tesson, G.J. Klein, R. Yee, A.C. Skanes, G.M. Guiraudon, L. Ebihara, and D. Bai, *Somatic mutations in the connexin 40 gene (GJA5) in atrial fibrillation*. N Engl J Med, 2006. **354**(25): p. 2677-88.
32. Kirchhoff, S., E. Nelles, A. Hagendorff, O. Kruger, O. Traub and K. Willecke, *Reduced cardiac conduction velocity and predisposition to arrhythmias in connexin40-deficient mice*. Curr Biol, 1998. **8**(5): p. 299-302.
33. Hagendorff, A., B. Schumacher, S. Kirchhoff, B. Luderitz and K. Willecke, *Conduction disturbances and increased atrial vulnerability in Connexin40-deficient mice analyzed by transesophageal stimulation*. Circulation, 1999. **99**(11): p. 1508-15.
34. Verheule, S., C.A. van Batenburg, F.E. Coenjaerts, S. Kirchhoff, K. Willecke and H.J. Jongasma, *Cardiac conduction abnormalities in mice lacking the gap junction protein connexin40*. J Cardiovasc Electrophysiol, 1999. **10**(10): p. 1380-9.

35. Brouillette, J., K. Rivard, E. Lizotte and C. Fiset, *Sex and strain differences in adult mouse cardiac repolarization: importance of androgens*. Cardiovasc Res, 2005. **65**(1): p. 148-57.
36. Shapiro, B.H., T.M. Niedermeyer and G.O. Babalola, *Serum androgen levels in senescent Cr1:CD-1 (ICR)BR mice: effects of castration and testosterone treatment*. J Gerontol, 1989. **44**(1): p. B15-9.
37. Holmes, A.P., T.Y. Yu, S. Tull, F. Syeda, S.M. Kuhlmann, S.M. O'Brien, P. Patel, K.L. Brain, D. Pavlovic, N.A. Brown, L. Fabritz, and P. Kirchhof, *A Regional Reduction in Ito and IKACH in the Murine Posterior Left Atrial Myocardium Is Associated with Action Potential Prolongation and Increased Ectopic Activity*. PLoS One, 2016. **11**(5): p. e0154077.
38. Ridler, M.E., M. Lee, D. McQueen, C. Peskin and E. Vigmond, *Arrhythmogenic consequences of action potential duration gradients in the atria*. Can J Cardiol, 2011. **27**(1): p. 112-9.
39. Jalife, J., O. Berenfeld and M. Mansour, *Mother rotors and fibrillatory conduction: a mechanism of atrial fibrillation*. Cardiovasc Res, 2002. **54**(2): p. 204-16.
40. Wijffels, M.C., C.J. Kirchhof, R. Dorland and M.A. Allessie, *Atrial fibrillation begets atrial fibrillation. A study in awake chronically instrumented goats*. Circulation, 1995. **92**(7): p. 1954-68.
41. Guo, X., W. Chen, H. Sun and Q. You, *Kv1.5 Inhibitors for Treatment of Atrial Fibrillation: A Tradeoff between Selectivity and Non-selectivity*. Curr Top Med Chem, 2016. **16**(16): p. 1843-54.
42. Igarashi, T., J.E. Finet, A. Takeuchi, Y. Fujino, M. Strom, I.D. Greener, D.S. Rosenbaum and J.K. Donahue, *Connexin gene transfer preserves conduction velocity and prevents atrial fibrillation*. Circulation, 2012. **125**(2): p. 216-25.
43. Chaldoupi, S.M., P. Loh, R.N. Hauer, J.M. de Bakker and H.V. van Rijen, *The role of connexin40 in atrial fibrillation*. Cardiovasc Res, 2009. **84**(1): p. 15-23.

44. Wilhelm, M., W. Kirste, S. Kuly, K. Amann, W. Neuhuber, M. Weyand, W.G. Daniel and C. Garlichs, *Atrial distribution of connexin 40 and 43 in patients with intermittent, persistent, and postoperative atrial fibrillation*. Heart Lung Circ, 2006. **15**(1): p. 30-7.
45. Kanagaratnam, P., A. Cherian, R.D. Stanbridge, B. Glenville, N.J. Severs and N.S. Peters, *Relationship between connexins and atrial activation during human atrial fibrillation*. J Cardiovasc Electrophysiol, 2004. **15**(2): p. 206-16.
46. Almeida, N.A., A. Cordeiro, D.S. Machado, L.L. Souza, T.M. Ortiga-Carvalho, A.C. Campos-de-Carvalho, F.E. Wondisford and C.C. Pazos-Moura, *Connexin40 messenger ribonucleic acid is positively regulated by thyroid hormone (TH) acting in cardiac atria via the TH receptor*. Endocrinology, 2009. **150**(1): p. 546-54.
47. Kihara, K., I. Fukui, Y. Higashi and H. Oshima, *Inhibitory effect of testosterone on gap junctional intercellular communication of human transitional cell carcinoma cell lines*. Cancer Res, 1990. **50**(9): p. 2848-52.

Table I. List of primers used for qPCR experiments

	Sens	Anti-sens	Reference
Cx40	CACAGTCATCGGCAAGGTCT	ATGGTATCGCACCGGAAGTC	NM_008121.3
Cx43	AGAACACGGCAAGGTGAAGA	AAGGACACCACCAGCATGAA	NM_010288.3
Cav1.2	ACAACCTGGCTGATGCGGA	TCACTGGGCTGGAGGTCATC	NM_001256002
SDHA	GAGGAAGCACACCCTCTATA	GCACAGTCAGCCTCATTCAA	NM_023281
Cyclo	CCGATGACGAGCCCTTGG	GCCGCCAGTGCCATTATG	NM_008907

Cx = Connexin, Cyclo = Cyclophyllin; SDHA = succinate dehydrogenase subunit A

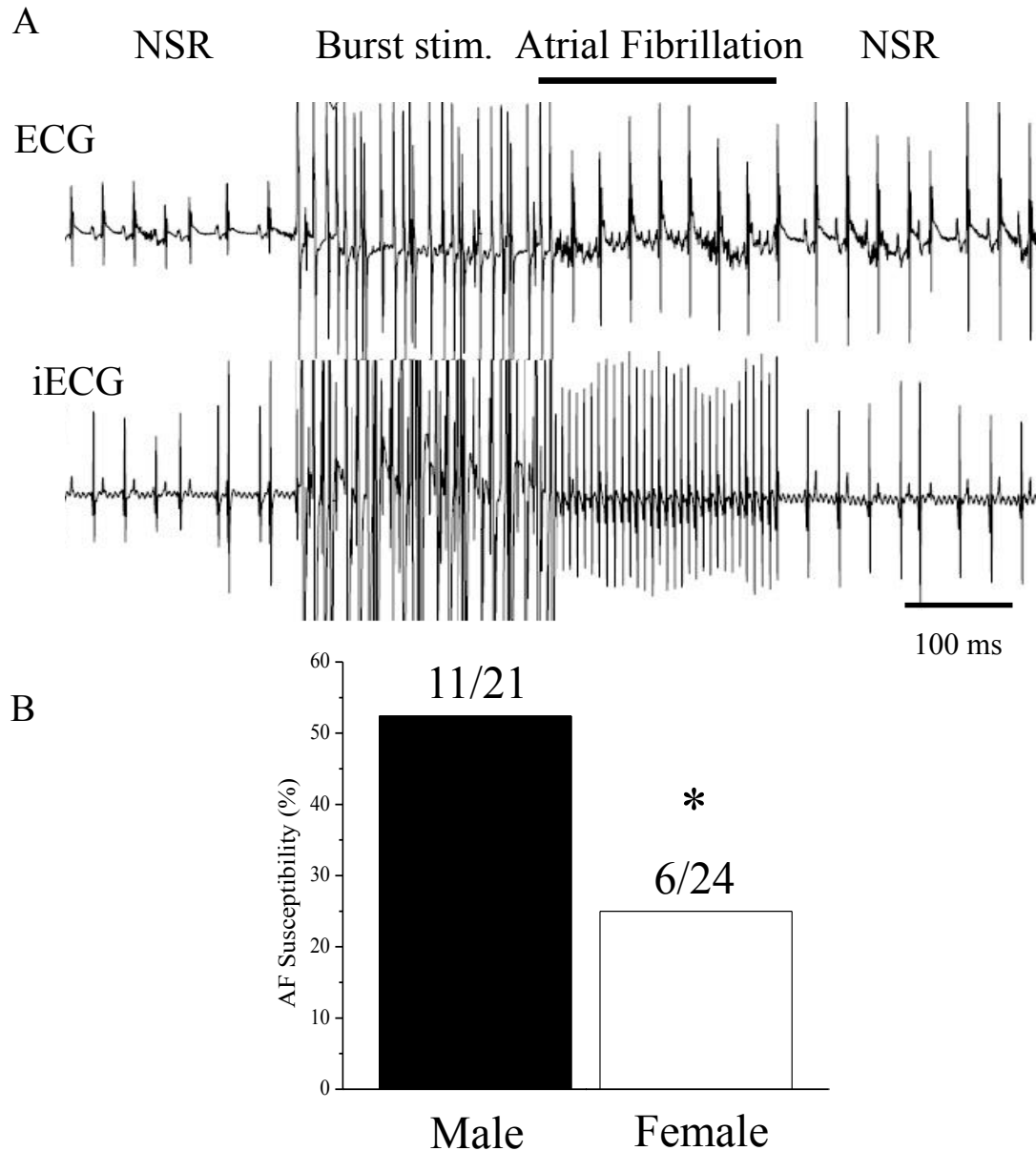


Figure 1. Atrial fibrillation susceptibility is higher in male than female mice. (A) Typical surface ECG recordings (lead I) (top) and intracardiac ECG recordings (iECG) (bottom) obtained using electrically programmed stimulations experiments. AF is triggered following 8 atrial burst stimulation (Burst stim.) (1s at S1S1: 50-10 ms, 10 ms stepwise reduction repeated 26 times). Normal sinus rhythm (NSR) is restored after AF termination. **(B)** Bar graph shows AF susceptibility (event > 1s) (%) in adult CD-1 male (52.4%) and female (25.0%) mice (* $p < 0.05$).

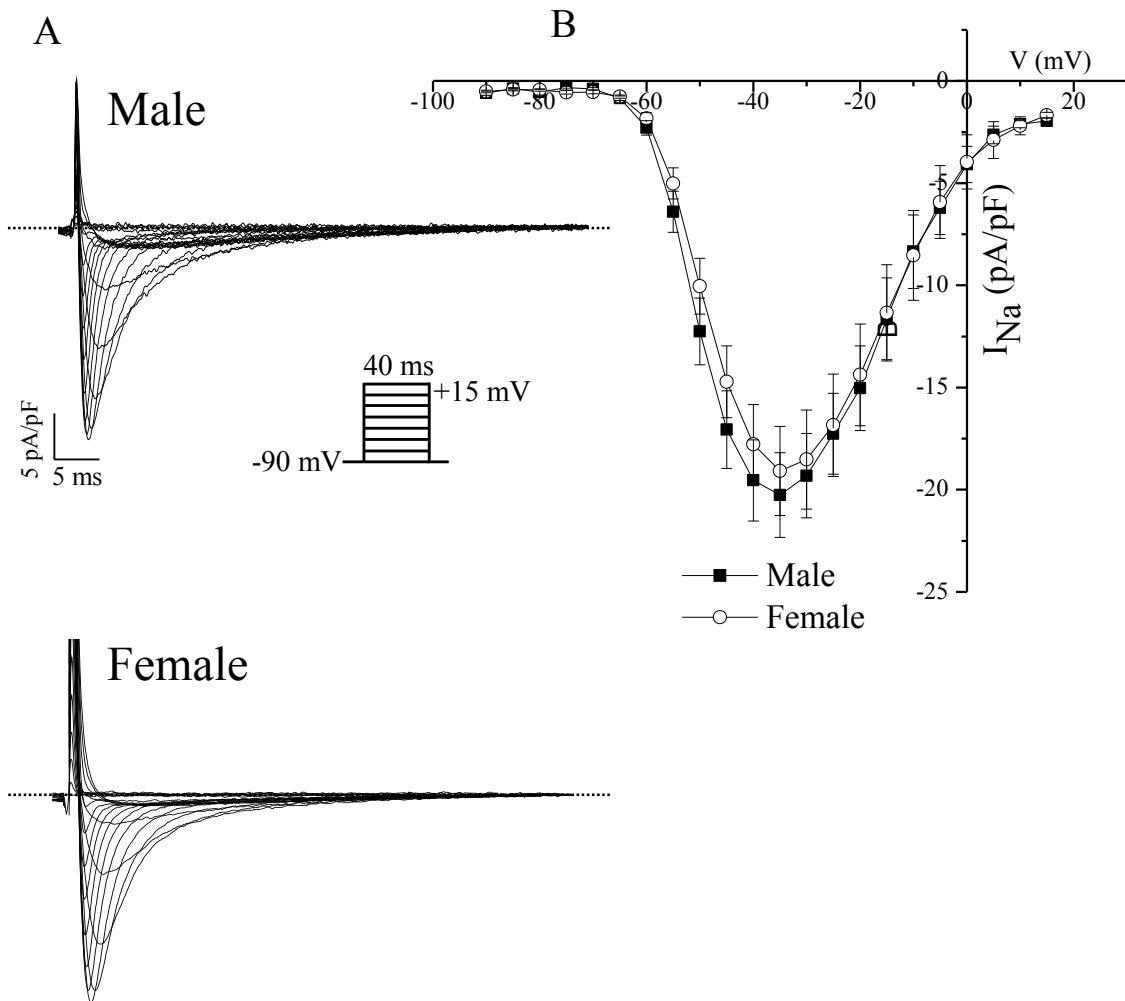


Figure 2. I_{Na} is similar between left atrial myocytes of 4-5 month-old male mice and age-matched female. (A) Typical recordings of I_{Na} in freshly isolated left atrial myocytes from male (top) and female (bottom) mice obtained with the voltage protocol shown in inset and the dotted lines indicate zero current. (B) Mean I_{Na} current-voltage relationships show no difference between both sexes (male: $n = 11$, $N = 3$; female: $n = 13$, $N = 3$).

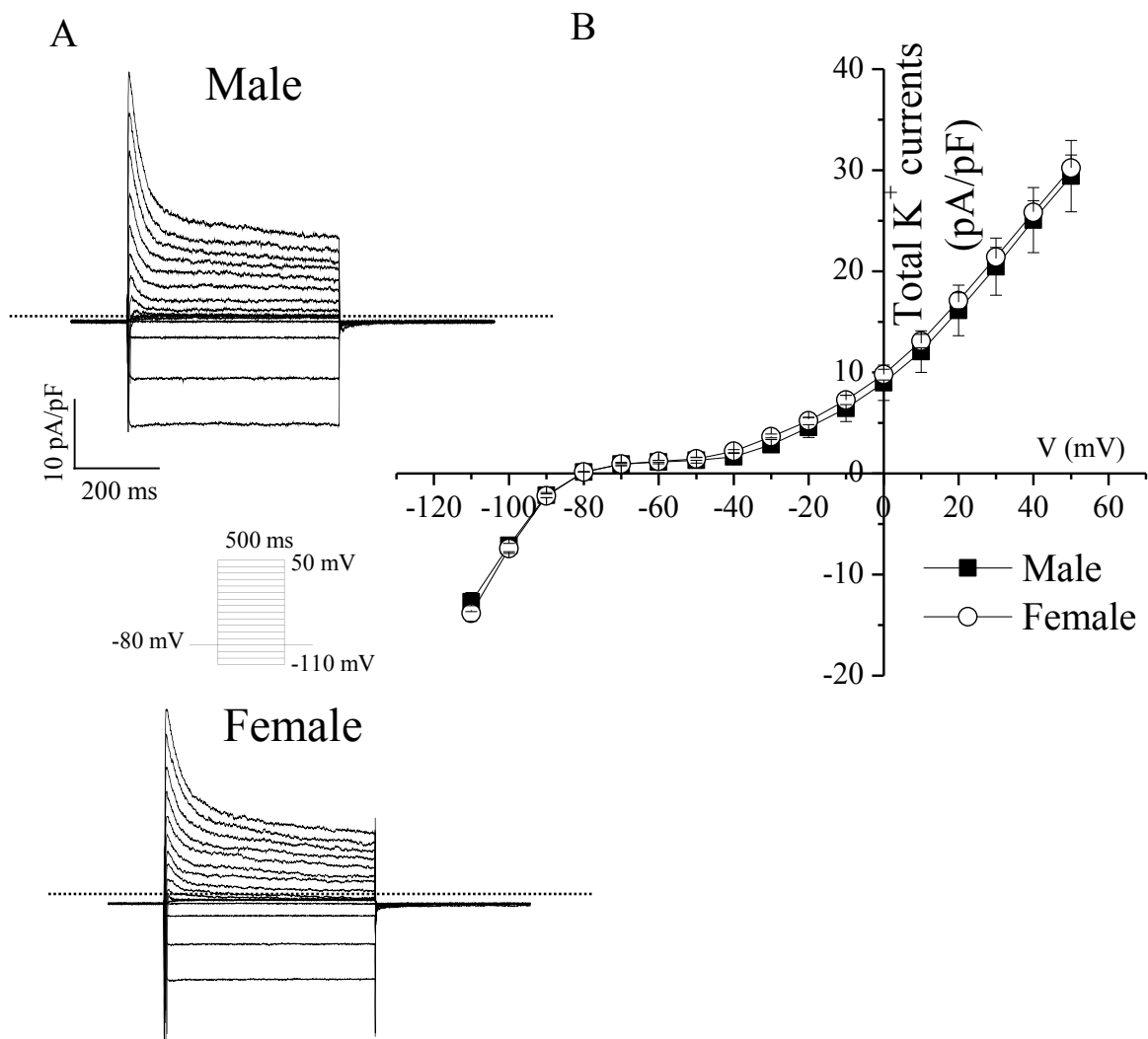


Figure 3. Total K⁺ current is similar between left atrial myocytes of 4-5 month-old male mice and age-matched female. (A) Typical recordings of total K⁺ currents in freshly isolated left atrial myocytes from male (top) and female (bottom) mice obtained with the voltage protocol is shown in inset and the dotted lines indicate zero current. **(B)** Mean total K⁺ current-voltage relationships show no difference between male and female mice (male: n = 13, N = 5; female: n = 26, N = 9).

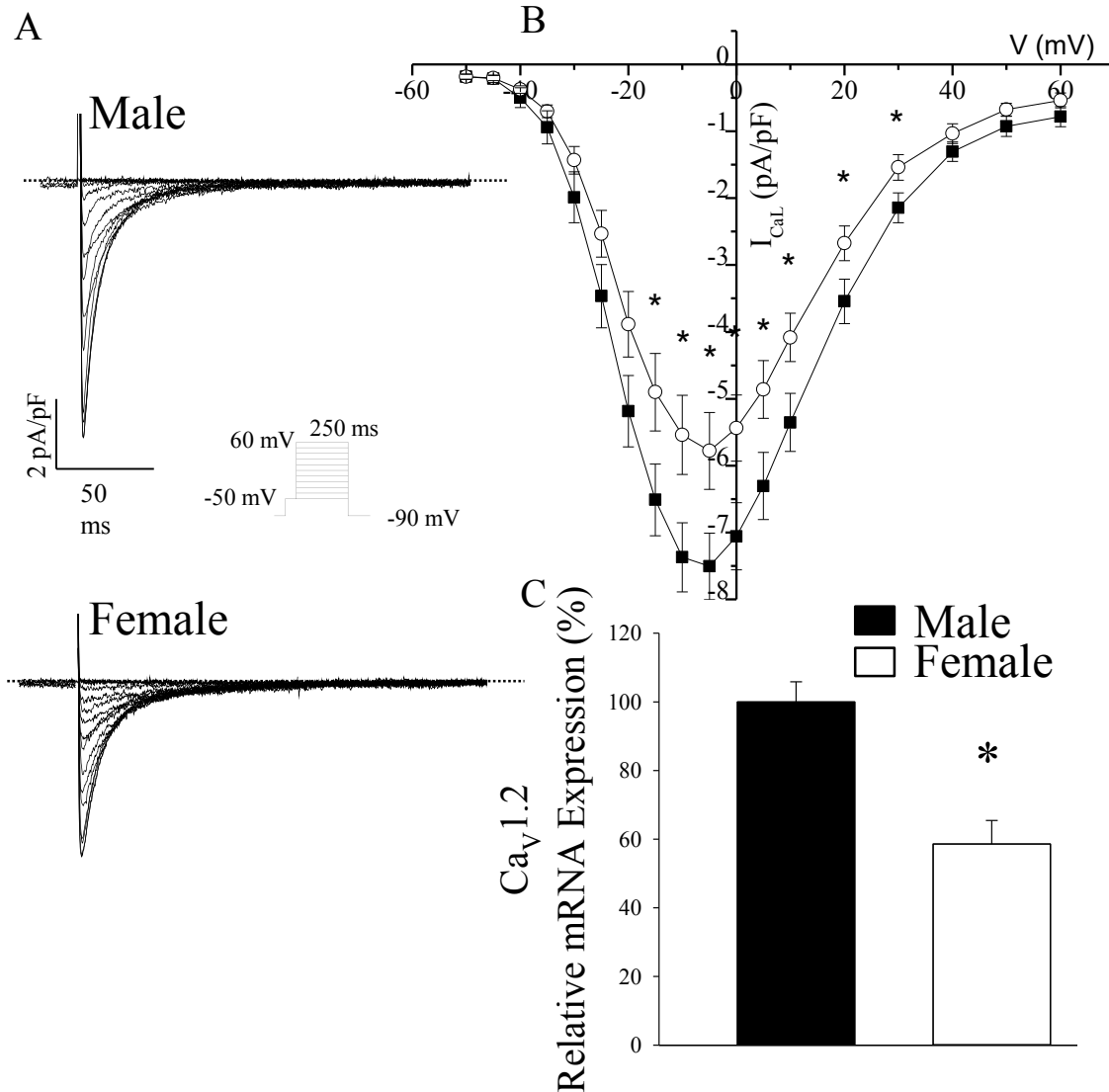


Figure 4. I_{CaL} and $Ca_v1.2$ mRNA expression are higher in left atrial myocytes of 4-5 month-old male mice compared to age-matched female. (A) Typical recordings of I_{CaL} in freshly isolated left atrial myocytes from CD-1 male (top) and female (bottom) mice obtained with the voltage protocol shown in inset and the dotted lines indicate zero current. **(B)** Mean I_{CaL} current-voltage relationships show a lower I_{CaL} density in female compared to male mice (male: $n = 14$, $N = 5$; female: $n = 14$, $N = 5$; $*p < 0.05$). **(C)** Relative $Ca_v1.2$ mRNA expression (%) in male and female left atrial tissues shows similar lower $Ca_v1.2$ expression in males ($n = 5$, $N = 12$; $*p < 0.05$).

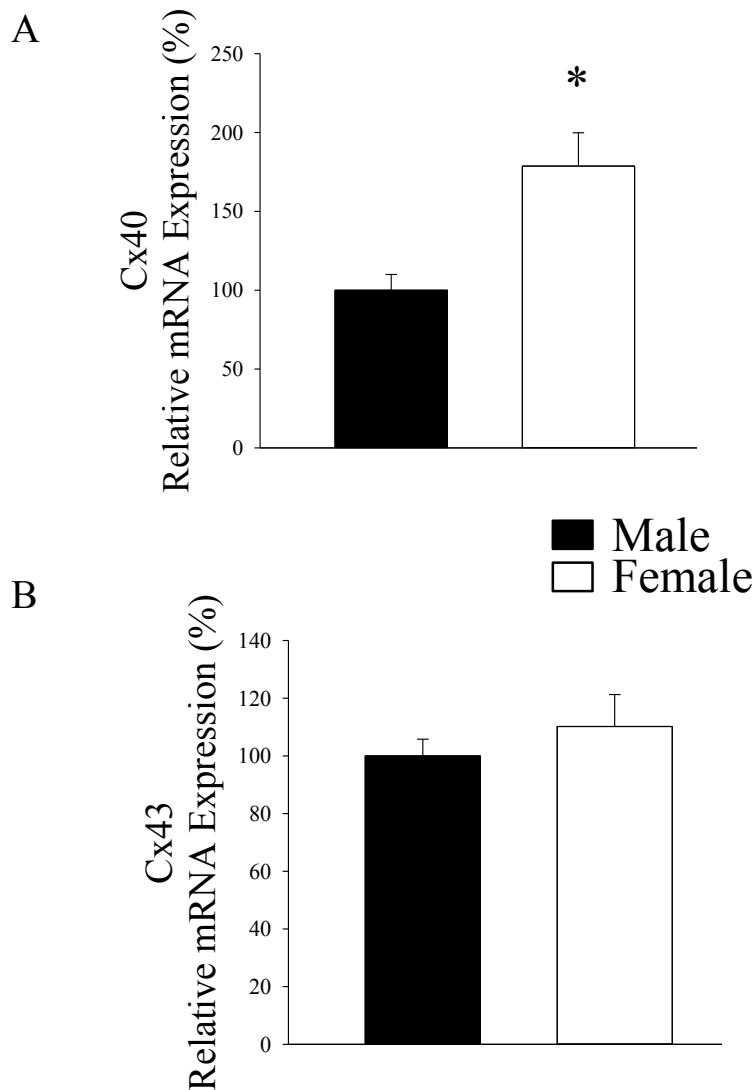


Figure 5. Left atrial connexin 40 mRNA expression is lower in male compared to female mice, whereas connexin 43 is similar between both sexes. (A) Relative Cx40 mRNA expression (%) in left atrial tissues of male and female mice indicates that Cx40 is less abundant in male mice compared to female mice (n = 5, N = 10; *p<0.05). **(B)** Relative Cx43 mRNA expression (%) in left atrial tissues of male and female mice show that Cx43 expression is similar between male and female mice (n = 6, N = 12).

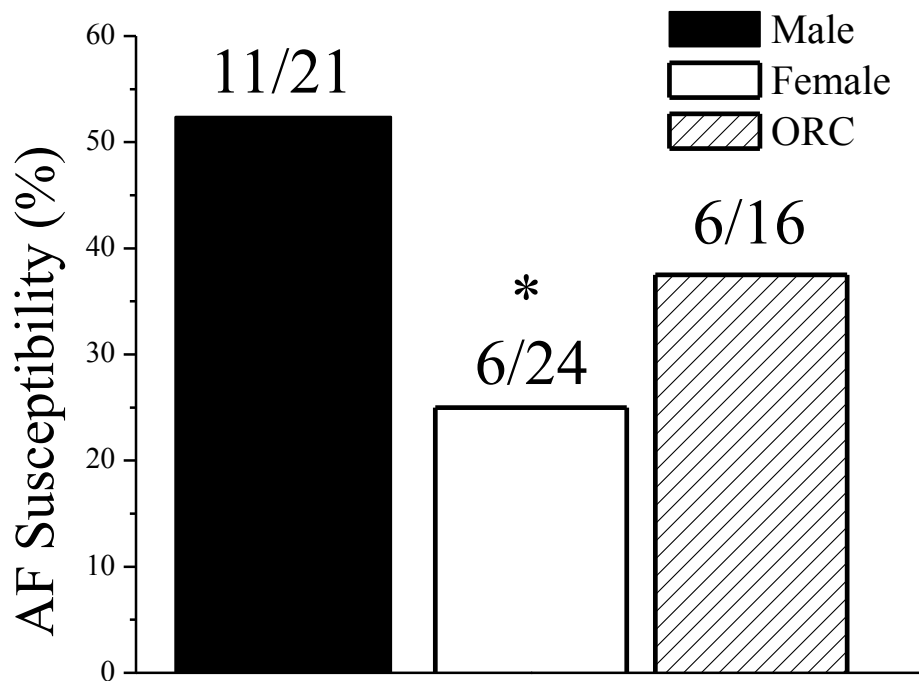


Figure 6. Atrial fibrillation susceptibility is reduced in orchiectomized male mice. Bar graph shows AF susceptibility (event >1s) (%) in male (52.4%), female (25.0%) and ORC (37.5%) mice. These data show that in absence of androgens, AF susceptibility is reduced (* $p < 0.05$).

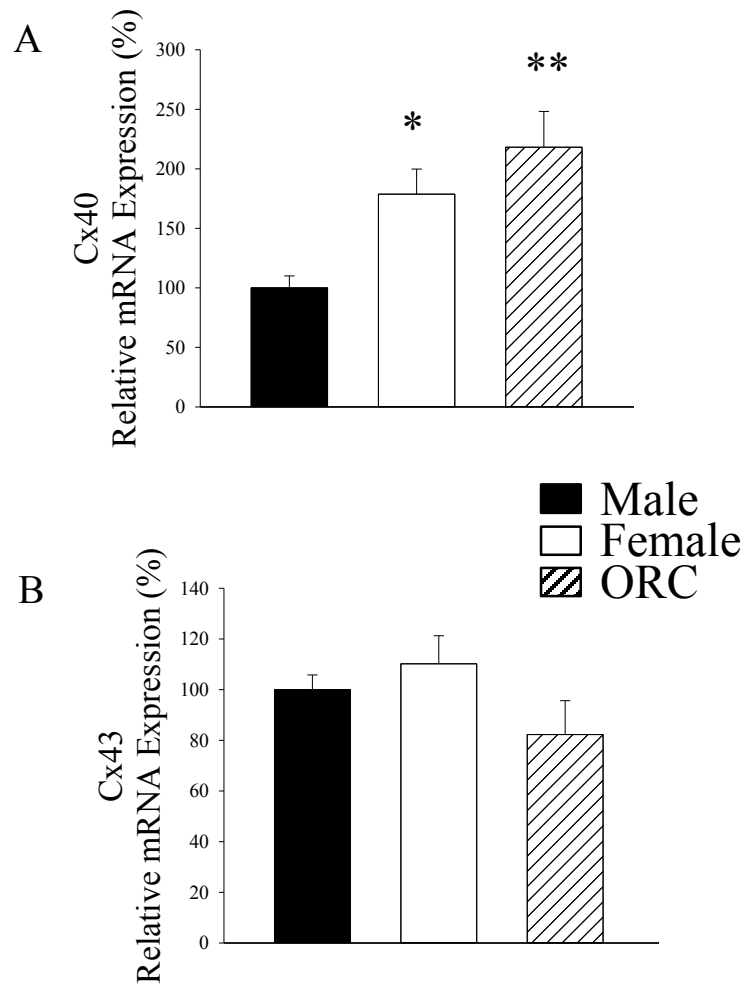


Figure 7. Left atrial connexin 40 mRNA expression in ORC is similar to female mice and both are higher than intact males, whereas connexin 43 is similar between the three groups. (A) Comparison of the relative Cx40 mRNA expression (%) in left atrial tissues obtained from male, female and ORC mice (n = 5, N = 10; *p < 0.05). Cx40 expression is increased in ORC male compared to age-matched intact male mice. (**p < 0.05 compared to CTL males). **(B)** Comparison of the relative Cx43 mRNA expression (%) in left atrial tissues of male, female, and ORC mice (n = 6, N = 12) shows no difference between the 3 groups.

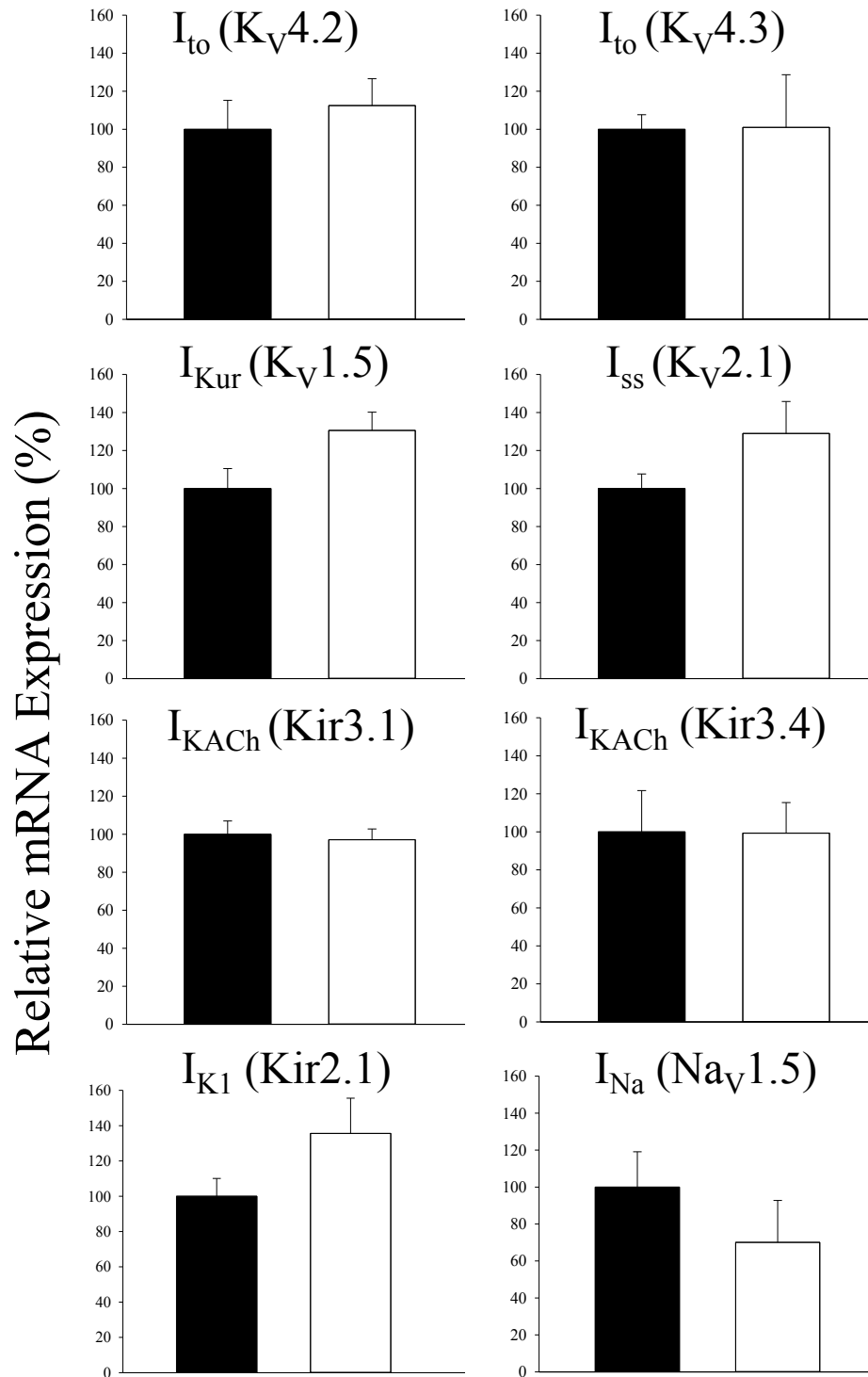


Figure S1. K^+ and Na^+ channels expression in male and female left atrial murine tissue. Relative mRNA expression of underlying K^+ and Na^+ channels subunits in male ($n = 6$) and female ($n = 5$) mice (number of mice used for each sex = 12).

Chapitre 4 – Discussion

4.1 – Principales découvertes

Cette thèse s'est concentrée sur deux facteurs de risque importants dans le développement de la fibrillation auriculaire, soit le système rénine-angiotensine et le sexe masculin. En premier lieu, il a été rapporté que l'utilisation d'inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine ainsi que des bloqueurs des récepteurs de type 1 de l'angiotensine II réduisent le risque de fibrillation auriculaire chez les patients atteints d'insuffisance cardiaque, suggérant un rôle de l'angiotensine II dans la prévention de la fibrillation auriculaire. Également, plusieurs observations cliniques ont démontré que la prévalence à la fibrillation auriculaire est deux fois plus élevée chez les hommes que chez les femmes, résultats que nous avons réussi à reproduire en utilisant un modèle murin. Les travaux de cette thèse tentent donc de démontrer l'importance des différences sexuelles et du système rénine-angiotensine dans la fibrillation auriculaire en étudiant deux des quatre principaux mécanismes de remodelage (électrophysiologique, structurel, contractile et neuronal) impliqués dans le développement de la FA, soit le remodelage électrophysiologique et structurel.

Les résultats des études effectuées sur le modèle de souris AT1R démontrent qu'une surexpression du récepteur de type 1 de l'angiotensine II spécifiquement au niveau du cœur réduit la densité de courant sodique et l'expression de connexines 40 auriculaires comparativement aux souris contrôles de même âge. Également, ce modèle de souris transgéniques a permis de démontrer que suite à la fibrose et l'hypertrophie cardiaques causées par une augmentation de l'activité du SRA, la densité de courant Ca^{2+} de type-L est diminuée par rapport aux contrôles. Par la suite, la deuxième étude de cette thèse montre qu'en lien avec la plus haute prévalence de FA observée chez les souris mâles, les souris CD-1 mâles expriment une quantité inférieure d'ARNm de connexines 40 comparativement aux femelles. Conséquemment, lorsque le taux d'androgène est réduit chez les souris mâles à la suite d'une orchectomie, on observe une augmentation de l'expression d'ARNm de connexines 40 et une réduction d'événements de FA comparativement aux mâles contrôles. Ces deux études suggèrent que la prévalence plus élevée de FA serait potentiellement liée à un problème au

niveau de la conduction cardiaque auriculaire soit via la réduction de l'expression des connexines 40 et du courant sodique auriculaire. Les travaux de cette thèse suggèrent donc des voies thérapeutiques visant les connexines 40 et les canaux sodiques dans la médecine de précision de l'avenir.

4.2 – AT1R et la fibrillation auriculaire

Plusieurs études ont été publiées démontrant une différence de densité de courants ioniques au niveau ventriculaire entre les souris transgéniques AT1R et les souris contrôles. [290, 292, 293] Ce modèle de souris est intéressant car il permet de distinguer les effets du système rénine-angiotensine, sans changement hémodynamique (souris âgées de 50 jours), de l'hypertrophie cardiaque (souris âgées de 6 mois) dont les caractéristiques hypertrophiques apparaissent seulement à partir de 65 jours.[343] Nous avons réalisé notre étude sur les oreillettes gauches, région d'où origine la fibrillation auriculaire. Nous nous sommes tout d'abord assurés que ces souris AT1R présentaient de l'hypertrophie tant au niveau cellulaire (capacitance cellulaire) que moléculaire (marqueur de fibrose i.e. ANP). Nos résultats au niveau auriculaire concordent avec les données ventriculaires rapportées dans la littérature.[293, 343] Ensuite, nous avons découvert que les souris AT1R âgées de 6 mois avaient une tendance plus élevée de présenter des événements de FA (58%) comparativement aux souris contrôles (42%). En raison du calibre du cathéter et de la dimension restreinte du cœur des souris de 50 jours, les expériences de stimulations électriques programmées sur les souris de 50 jours n'étaient pas possibles. En effet, en raison de sa taille, l'insertion du cathéter était suffisante pour déclencher une FA, ou de déchirer le myocarde menant au décès de l'animal durant la procédure; ces limitations techniques ont rendu impossible l'étude de la susceptibilité à la FA chez les souris de 50 jours. Cependant, nous pouvons constater que les changements électrophysiologiques (courant Na^+) et de conduction (connexines 40 et intervalle PR) observés chez les souris de 6 mois étaient déjà présents chez les souris âgées de 50 jours. De plus, notre deuxième étude a permis de démontrer qu'une diminution de connexines 40 favorise le développement de FA. Ceci suggère que les souris transgéniques surexprimant AT1R sont plus à risque de FA (possiblement associée à une perturbation de la conduction auriculaire) que les souris contrôles.

Sachant que le remodelage électrophysiologique est un facteur important dans le développement de la FA, nous avons étudié les différents courants ioniques impliqués dans le potentiel d'action. Nos résultats démontrent donc que chez les souris de 50 jours, seul I_{Na} est affecté par l'activation chronique des AT1R. Par contre, lorsque l'hypertrophie est présente (6 mois), on constate que la densité d' I_{CaL} auriculaire diminue également. Une augmentation de l'hypertrophie cardiaque est souvent accompagnée d'un remodelage structurel qui est caractérisé par une perte de cardiomyocyte, une prolifération de fibroblastes interstitiels et de dépôt de collagènes, conduisant vers une hausse du risque d'insuffisance cardiaque. De plus, les voies de signalisation associées à l'hypertrophie cardiaques peuvent activer les récepteurs d'AngII, qui sont eux relâchés en réponse à une baisse de contractilité. Ainsi, pour remédier à cette baisse de contractilité, l'AngII cause une augmentation de la relâche de Ca^{2+} via le réticulum sarcoplasmique. De plus, cette augmentation intracellulaire de Ca^{2+} active la calmoduline et induit une activation des facteurs de transcription, Mef2 (*myocyte enhancer factor-2*) impliqués dans l'inhibition de la séquestration de Ca^{2+} du cytosol causant d'avantage une augmentation de la concentration calcique cytosolique. Bref, pour compenser cette hausse de Ca^{2+} intracellulaire, les canaux Ca^{2+} de type-L sont diminués lors d'hypertrophie cardiaque.[344, 345]

Comme la diminution d' I_{Na} est similaire entre les deux âges, nous pouvons inférer que l'hypertrophie n'exacerbe pas les effets néfastes de la surexpression d'AT1R au niveau d' I_{Na} . Parallèlement, l'ARNm sous-jacent de ces canaux varie en fonction des densités de courants rapportées en électrophysiologie. Au sein de notre laboratoire, Mathieu *et al.* ont démontré que les courants Na^+ ventriculaires sont réduits chez les souris surexprimant AT1R[292] et similairement, Shang *et al.* ont rapporté une diminution des courants Na^+ dans les myocytes ventriculaires de rats nouveau-nés exposés à l'AngII.[346]

Afin d'élucider la raison pour cette susceptibilité accrue à la FA, il était important d'étudier les connexines qui sont impliquées dans la propagation électrique intercellulaire. En tout premier lieu, une étude a démontré que l'AngII induisait le remodelage des tyrosines kinases des connexines augmentant ainsi les risques de mort subite[347] via un problème de phosphorylation. En effet, une diminution de la phosphorylation des connexines affecte la

fonction des jonctions gap en facilitant par exemple sa dégradation.[348-350] De plus, dans un modèle de constriction artérielle transverse, Yasuno *et al.* ont rapporté un taux d'incidence d'arythmies moins élevée chez les souris dépourvues d'AT1R comparativement aux contrôles, ce qui était également associé à une réduction plus faible de l'expression protéique de Cx43.[351] Par ailleurs, l'utilisation de Valsartan (un bloqueur des récepteurs de type 1 de l'angiotensine II) augmente l'expression génique et protéique de Cx43 ventriculaires et est associée, en clinique, à la diminution d'événements d'arythmies ventriculaires.[352] Parallèlement, une étude réalisée sur un modèle de souris surexprimant l'enzyme de conversion de l'angiotensine montre une diminution d'expression des Cx40 et Cx43 ventriculaires et lorsque cette surexpression disparaît, les niveaux d'expression des connexines remontent à des valeurs similaires aux contrôles.[353] Bien que les études mentionnées aient été réalisées dans les ventricules et qu'elles démontrent un lien entre les connexines 43 et le système rénine-angiotensine, elles renforcent tout de même nos résultats, démontrant que l'activation chronique des récepteurs de type 1 de l'angiotensine II régule négativement l'expression des connexines cardiaques et peut favoriser les événements antiarythmiques associés au SRA. Nos résultats démontrent d'ailleurs que certaines propriétés électrophysiologiques liées au système de conduction auriculaire, telles que l'intervalle PR, l'onde P, l'amplitude du potentiel d'action et la vitesse de dépolarisation du potentiel d'action (V_{max}), étaient affectées par la surexpression d'AT1R suggérant un retard de conduction chez les souris surexprimant AT1R.

Notre étude suggère également que la régulation des canaux ioniques auriculaires et ventriculaires diffèrent l'une de l'autre. Auparavant, notre laboratoire a démontré qu'une activation chronique des AT1R (souris âgées de 50 jours) causait une diminution des courants sodiques, potassiques et calciques ventriculaires due, respectivement, à une régulation par les PKC α (l'augmentation de l'expression protéique de cette protéine diminue la translocation de Nav1.5 vers la membrane [354]) et à une baisse des niveaux d'expression génique et protéique de Cav1.2 et des canaux K $^{+}$. Comme les résultats de cette thèse le suggèrent, au niveau des oreillettes, seul le courant Na $^{+}$ est diminué suite à une activation chronique des AT1R et contrairement aux ventricules, elle est liée à une baisse de la transcription de Nav1.5 (sous-unité α). De plus, lorsque l'hypertrophie apparaît dans notre modèle de souris (chez les souris âgées de 6 mois), au niveau ventriculaire, les effets observés sur les courants ioniques ne s'aggravent

pas davantage; tandis que dans les oreillettes, l'hypertrophie cause une réduction d' I_{CaL} sans réduire davantage les courants Na^+ et sans affecter les courants K^+ .

Tels que mentionnés dans l'introduction, les effets néfastes de l'AngII passent par l'activation du récepteur de type 1 de l'Ang II qui à leur tour peuvent activer ou inhiber les voies de signalisation des protéines G et ainsi réguler les protéines kinases qui sont grandement impliquées dans la phosphorylation et la régulation des canaux ioniques. De plus, il a été rapporté que les protéines RGS (« *regulators of G-protein signaling* ») sont exprimées dans les myocytes et inhibent les réponses des voies de signalisation de $G\alpha_{q/11}$ médiées par l'AngII [355-357]. L'implication de la voie $G\alpha_{q/11}$ suite à son activation par l'AngII permet, entre autres, de moduler plusieurs processus cellulaires tels que la régulation de la prolifération, la protection contre l'apoptose et la synthèse et migration protéique.[358-361] Une étude démontre que les souris transgéniques déficientes en RGS2 développent plus d'hypertrophie et d'insuffisance cardiaque et meurent plus rapidement que les souris contrôles.[362] De plus, il a été rapporté que l'expression de RGS2 est plus importante au niveau auriculaire; en effet, Matsuzaki *et al.* ont observé une expression plus élevée de RGS2 dans les oreillettes comparativement aux ventricules et ont démontré que les RGS2 inhibent les effets de l'AngII au niveau de la réponse calcique intracellulaire.[363] Park-Windhol *et al.* ont montré qu'une surexpression de RGS2 spécifiquement cardiaque n'a pas diminué l'hypertrophie ventriculaire causée par une infusion d'AngII.[364] Ces observations expérimentales pourraient potentiellement permettre d'expliquer les différences entre les oreillettes et les ventricules au niveau de la réponse à la surexpression d'AT1R et un rôle protecteur de RGS2 au niveau des oreillettes prévenant le remodelage électrophysiologique causé par le système rénine-angiotensine. Basé sur ces études, des expériences de qPCR ont été réalisées dans le but de comparer l'expression génique de RGS2 dans les oreillettes et les ventricules (Figure 21). En accord avec la littérature, nos résultats montrent que l'ARNm de RGS2 est plus fortement exprimé dans les oreillettes comparativement aux ventricules, tant chez les souris contrôles que transgéniques.

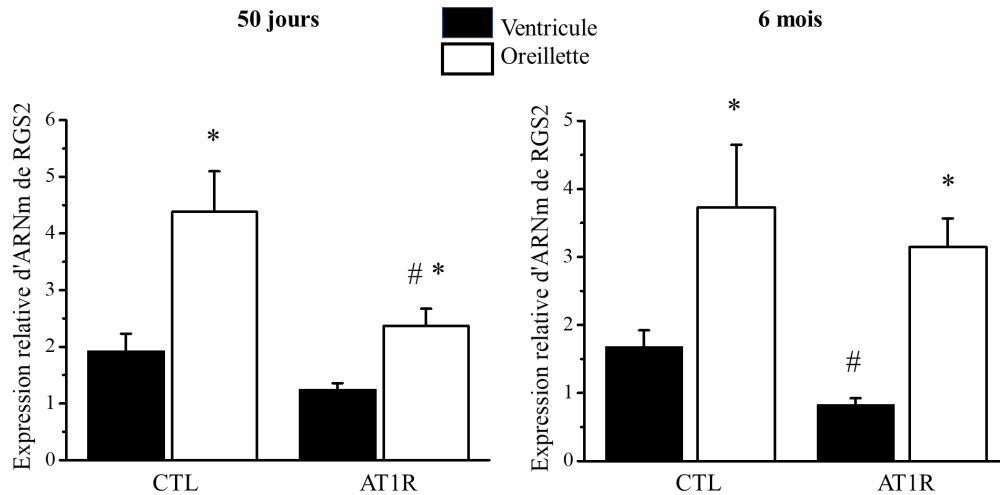


Figure 21. Comparaison de l'expression d'ARNm de RGS2 dans les oreillettes et les ventricules de souris contrôles (CTL) versus AT1R de 50 jours et 6 mois. On note une expression significativement plus élevée dans les oreillettes comparativement aux ventricules (n=4/N=8, *p<0,05 entre le ventricule et l'oreillette de même âge et groupe, # p<0,05 entre CTL et AT1R de même âge).

Ainsi, ces résultats pourraient contribuer à expliquer la raison pour laquelle chez les souris transgéniques de 50 jours aucune diminution d' I_{CaL} n'est observée dans les oreillettes. En effet, en prévenant le remodelage électrophysiologique au niveau du courant Ca^{2+} (baisse de la densité de courant et de l'expression génique de $Ca_v1.2$) causé par le système rénine-angiotensine, cette plus forte expression de RGS2 au niveau des oreillettes explique l'absence d'effet comparativement aux résultats observés dans les ventricules de souris transgéniques de 50 jours. Bien que cette différence d'expression de RGS2, entre les oreillettes et les ventricules, soit présente chez les souris de 6 mois, nos résultats rapportent tout de même une diminution de densité d' I_{CaL} à 6 mois. Ainsi, les résultats de qPCR présentés dans la Figure 21 renforcent la notion que RGS2 ne protège pas les canaux ioniques calciques contre les effets de l'hypertrophie (6 mois), mais seulement contre les effets néfastes du SRA (50 jours). De plus, il est intéressant de constater que chez les souris de 50 jours, l'expression de RGS2 auriculaire est inférieure chez les souris AT1R comparativement aux contrôles, ce qui laisse croire que ce faible niveau d'expression de RGS2 est suffisant pour exercer son rôle protecteur. En effet, bien que l'expression de RGS2 dans les oreillettes de souris transgéniques de 6 mois est plus élevée que

celle de 50 jours, nous avons toutefois observé une diminution d' I_{CaL} chez les 6 mois, soutenant l'hypothèse que les effets étudiés à 6 mois sont dus au remodelage structural. Pour vérifier cette théorie, il serait intéressant de créer un modèle de souris transgéniques déficient en RGS2 et de mesurer la densité d' I_{CaL} suite à une stimulation chronique des récepteurs de type 1 de l'AngII. Bref, les données rapportées à la Figure 21 suggèrent qu'au niveau des oreillettes, le SRA ne semble pas causer d'effet néfaste sur I_{CaL} possiblement grâce à la présence plus élevée de RGS2 comparativement aux ventricules.

4.3 – Différences mâle-femelle dans la fibrillation auriculaire

Il est bien documenté que le sexe masculin est un facteur de risque important de la fibrillation auriculaire chez l'humain. Nous avons montré que le modèle de souris CD-1 réplique bien ces observations cliniques. En effet, les expériences d'EPS, qui consistent à déclencher de la fibrillation auriculaire via des stimulations électriques programmées, montrent que les souris mâles présentent deux fois plus d'événements de FA que les femelles (52% versus 25%). De précédentes études effectuées par notre laboratoire ont rapporté une densité d' I_{Kur} plus élevée chez les mâles intacts comparativement aux souris femelles et mâles orchietomisées.[297] Ceci est intéressant, car I_{Kur} ($K_{v1.5}$) est le courant K^+ majoritaire dans la repolarisation auriculaire chez l'humain et possède donc un intérêt thérapeutique attrayant comme traitement des arythmies supraventriculaires telles que la fibrillation auriculaire. De plus, les études précédemment réalisées dans notre laboratoire ont démontré une augmentation de la densité d' I_{Kur} et de $K_{v1.5}$ ventriculaires chez les souris ORC traitées aux androgènes. Ceci démontre l'implication des hormones sexuelles mâles dans la régulation d' I_{Kur} ventriculaire. Cependant, les études d'électrophysiologie au niveau des oreillettes murines n'ont pas détecté de différence de courant K^+ total (et de $K_{v1.5}$) entre les souris mâles et femelles, démontrant que la plus haute prévalence de fibrillation auriculaire chez les mâles murins n'est pas due au remodelage d' I_{Kur} ou aux canaux potassiques. Ces résultats illustrent la différence de régulation entre les oreillettes et les ventricules.

Très peu d'études comparent les différences d'expression auriculaire de $Nav1.5$ et de densités d' I_{Na} entre les mâles et les femelles. Cependant, au niveau ventriculaire, les études chez le chien, contrairement à l'humain,[300] ne rapportent aucune différence d' I_{Na} entre les

sexes.[296] Similairement, notre laboratoire n'a rapporté aucune différence d' I_{Na} ventriculaire entre les souris mâles et femelles à deux reprises, soit dans la lignée de souris CD-1 et C57BL/6.[333, 365] Tout d'abord, les designs expérimentaux peuvent expliquer ces résultats divergents. Par exemple, les résultats rapportés dans les études canines utilisent des chiens mâles castrés traités à l'œstrogène et les femelles sont ovariectomisées et traitées à la testostérone. Également, nous avons démontré que les souris C57BL/6 mâles ont un niveau androgénique très bas comparativement aux souris mâles CD-1 et ceci peut expliquer le fait qu'aucune différence d' I_{Na} n'a été observée dans ce modèle expérimental.

Par la suite, on constate que les données observées dans la littérature par rapport au courant I_{CaL} varient énormément; certaines études suggérant l'implication des œstrogènes, tandis que d'autres proposent un effet androgénique dans la modulation d' I_{CaL} . [299, 338, 366, 367] Plusieurs groupes ont rapporté une diminution d' I_{CaL} chez les patients atteints de FA. [79, 136-138] Par contre, nos résultats dans les oreillettes montrent que les souris CD-1 femelles possèdent une densité d' I_{CaL} inférieure aux mâles. Cette plus faible densité de courant calcique chez la souris femelle plutôt que le mâle démontre qu' I_{CaL} ne semble pas être impliqué dans la plus haute prévalence de FA observée chez les mâles. Cette différence entre les résultats de la littérature et nos données n'est pas surprenante. Tout d'abord, les observations cliniques sont effectuées sur des patients déjà atteints de FA alors que nos souris sont saines, permettant de déterminer les substrats potentiellement impliqués dans le développement plus élevée de FA chez les mâles. Par ailleurs, une étude effectuée sur des rongeurs suggère que les œstrogènes diminuent la densité des courants I_{CaL} . [367] Également, chez l'humain en santé, le courant I_{CaL} auriculaire est inférieur chez la femme comparativement à l'homme. [368] Des études précédentes montrent que les androgènes en se liant à leurs récepteurs activent un plus grand nombre de canaux Ca^{2+} de type-L. [369, 370] L'augmentation de l'activité du canal Ca^{2+} de type-L entraîne potentiellement une augmentation de la concentration calcique intracellulaire qui résulte en l'apparition de battements ectopiques. De plus, durant la FA, une augmentation des contractions auriculaires est souvent notée, causant du coup une accumulation de Ca^{2+} intracellulaire. Ainsi, afin de compenser cette surcharge calcique, le premier mécanisme de régulation consiste à diminuer I_{CaL} dans le but de diminuer la concentration calcique cytosolique. Il est donc possible que la diminution d' I_{CaL} observée chez ces patients soit un mécanisme

compensatoire qui ne serait pas présent ni nécessaire chez les souris plus jeunes/saines ne présentant pas de fibrillation auriculaire.

Par ailleurs, les patients atteints de FA présentent une diminution de l'expression des connexines et leur localisation est plus latéralisée.[175, 371] Dans le cadre de cette thèse, nous avons observé une plus faible expression de Cx40 chez les souris mâles comparativement aux femelles. Bien que la différence d'expression génique observée ne soit pas significative, Pfanmmuler *et al.* ont rapporté, en condition basale, que les femmes avaient une tendance à avoir une expression de Cx40 légèrement plus élevée que les hommes.[372] Quant à la latéralisation, elle peut causer une mauvaise propagation de l'influx électrique favorisant des voies de réentrées. Donc, ces altérations de connexines causent une réduction de la vitesse de conduction auriculaire et une perturbation des voies de conduction normales, due à la latéralisation menant à l'apparition de voie de conduction secondaire ou connexe (Figure 10). Afin de vérifier cette hypothèse, des ECG de surface ont été réalisés afin d'étudier la vitesse de propagation auriculaire et d'évaluer les différences d'intervalle PR entre les souris mâles et femelles; l'imagerie optique nous permettra également d'étudier les voies et vitesses de propagation. Ces expériences permettront de déterminer si la propagation auriculaire chez les mâles est moins efficace et multidirectionnelle comparativement aux femelles en détectant la présence de réentrée, de foyers ectopiques et un ralentissement de la conduction auriculaire. Ainsi, une prolongation de l'intervalle PR et de l'onde P chez les mâles confirmeraient la présence des troubles de conduction chez les mâles comparativement aux femelles. De plus, des études d'immunofluorescence sont présentement en cours pour étudier la localisation des connexines au niveau des myocytes auriculaires. Il est important de spécifier que ce sont les connexines sous leur forme phosphorylée qui sont actives, ainsi en parallèle, des études d'immunobuvardage de type western seront réalisées afin de déterminer le ratio de connexines phosphorylées par rapport aux non-phosphorylées, car il est possible que la phosphorylation des connexines diffère entre les sexes. Présentement, aucun anticorps commercial contre les Cx40 phosphorylées existent. Pour remédier à cela, il est possible d'utiliser la technique de co-immunoprécipitation avec un anti-Cx40, puis utiliser les anticorps contre les sérines 120 et sérines 345, qui sont impliquées dans la phosphorylation des Cx40 via la PKA.[373, 374] Également, un double marquage de Cx40 et des sérines 120 ou 345 en immunofluorescence

permettra également de détecter une colocalisation et renforcer les études de co-immunoprécipitation. Ces études d'immunofluorescence, d'immunobuvargage et de co-immunoprécipitation permettront de déterminer les différences d'expression protéique entre les mâles et les femelles tout en illustrant la latéralisation d'expression des connexines. Si notre hypothèse est juste, ces différences mâles-femelles devraient être renversées chez les souris mâles orchietomisées.

Par ailleurs, deux autres mécanismes impliqués dans la fibrillation auriculaire sont le remodelage contractile et neuronal. Ainsi, il serait intéressant d'étudier les différences entre les souris mâles et femelles au niveau de l'homéostasie calcique, du raccourcissement cellulaire et du transient calcique. Il a souvent été rapporté que la fibrillation auriculaire est causée par l'apparition de foyers ectopiques provenant d'une fuite de Ca^{2+} du réticulum sarcoplasmique via les récepteurs à la ryanodine 2. Cette augmentation de la concentration calcique cytosolique déclenche alors des battements ectopiques, tels que des post-dépolarisation précoces, et favorise l'apparition de la FA (Figure 12 et 15). Similairement, une surcharge de Ca^{2+} cytosolique peut accroître l'activité inverse de NCX et augmenter la concentration sodique cytosolique en échange du Ca^{2+} permettant alors aux canaux Na^+ d'atteindre leur seuil d'activation ce qui peut déclencher un potentiel d'action, soit une post-dépolarisation retardée. De plus, en présence de FA, la fréquence de contractions auriculaires peut augmenter jusqu'à 10 fois causant une accumulation supplémentaire de Ca^{2+} [375] et altérer l'homéostasie calcique tout en diminuant la relâche de Ca^{2+} systolique.[376, 377] Ces perturbations diminuent les forces de contraction auriculaires et peuvent augmenter les risques de thrombo-embolies, car le sang demeure stagnant.[124, 378] Pour la suite des études, il serait intéressant d'étudier les protéines impliquées dans l'homéostasie calcique telle que les RyR2, SERCA2 et NCX dans le but de démontrer si les mâles ont potentiellement plus de fuite de Ca^{2+} du RS et une concentration calcique cytosolique plus élevée provoquant des événements de post-dépolarisations.

Plusieurs facteurs de risques peuvent être impliqués dans le développement de la FA suite à un remodelage neuronal. Tout d'abord, l'apnée du sommeil obstructive (ASO), causée par l'obstruction des voies respiratoires supérieures malgré l'augmentation des efforts respiratoires exercés par les muscles thoraciques et abdominaux, accroît les risques de

réurrence de FA et l'ASO affecte 25% des hommes et 9% des femmes entre 30 et 60 ans.[379] Lors d'une ASO, le réflexe systémique est d'augmenter l'activité sympathique et vagale. L'augmentation du système sympathique induit une phase prolongée de transient calcique, tandis que l'activité vagale cause ainsi un raccourcissement de la durée du potentiel d'action et de la période réfractaire effective menant possiblement vers le déclenchement d'une FA.[262, 380, 381] Par ailleurs, le remodelage neuronal est présent chez les athlètes pratiquant des sports d'endurance où une augmentation d' $I_{K_{ACh}}$ est observée.[188, 190] Les athlètes pratiquant des sports d'endurance ont une fréquence cardiaque plus lente et ont donc tendance à avoir un système parasympathique plus actif (associé à une plus grande relâche d'acétylcholine), ce qui peut expliquer la plus grande densité d' $I_{K_{ACh}}$. Étudier l'implication d' $I_{K_{ACh}}$ dans la FA serait intéressant, car ce courant K^+ est spécifiquement exprimé au niveau auriculaire. Pour ce faire, nous pouvons utiliser la méthode de *patch clamp* en mode voltage imposé et enregistrer les densités de courants suite à une stimulation cholinergique; ceci pourrait être utile puisque, nous n'avons enregistré aucune différence d'expression génique de Kir3.1 et Kir3.4 entre les mâles et les femelles en condition basale. Nous pouvons également faire des études en mode courant imposé et évaluer les variations au niveau des propriétés électrophysiologiques du potentiel d'action (telle que la durée de potentiel d'action et le potentiel de repos membranaire) suite à la stimulation cholinergique. Si nous voyons une différence de courant, il faudra ensuite mesurer les niveaux d'expressions protéiques impliqués dans le fonctionnement du courant $I_{K_{ACh}}$ (phosphorylation des protéines G et des récepteurs impliqués dans l'activation d' $I_{K_{ACh}}$, tels que les récepteurs nicotiques et muscariniques). Par ailleurs, une augmentation de l'activité du système sympathique en lien avec l'exercice régule plusieurs molécules impliquées dans la réponse électrophysiologique et contractile, telles que la PKA et l'AMPC qui à leur tour jouent un rôle important dans la modulation de l'activité de certains canaux ioniques (Na^+ et Ca^{2+}) et protéines de l'homéostasie calcique (PLB, RyR2 et SERCA2a). Toutes ces molécules jouent un grand rôle dans les remodelages impliqués dans le développement de la fibrillation auriculaire. Une augmentation de la phosphorylation de ces protéines accroît leur activité. Tel que mentionné auparavant, une augmentation de la densité du courant I_{CaL} peut causer une prolongation de la durée du potentiel d'action et plus précisément de la phase plateau, ce qui augmente les risques de post-dépolarisations précoces. Entre autres, une augmentation de la probabilité d'ouverture de RyR2 peut mener à une fuite calcique du réticulum sarcoplasmique

et entraîner des battements ectopiques causés par l'augmentation de la concentration de Ca^{2+} cytosolique. Similairement, l'augmentation de la densité d' I_{Na} stimule l'activité de NCX qui entraînera également un accroissement de la concentration calcique au niveau du cytosol ou une prolongation de la durée du potentiel d'action.

4.4 – Similitude et lien entre les deux études

Tout d'abord, il est connu que le système-rénine angiotensine et le sexe masculin sont deux facteurs de risque importants dans le développement de la fibrillation auriculaire. Nous avons démontré dans la deuxième étude, à l'aide d'un modèle murin sain, qu'en situation basale, la susceptibilité plus élevée à la fibrillation auriculaire est associée à une plus faible expression génique de connexines 40. Par la suite, à l'aide de la première étude effectuée dans un modèle murin surexprimant le récepteur de type 1 à l'angiotensine II, nous avons démontré qu'en condition pathologique, en plus des connexines 40, le courant Na^+ (SCN5a) joue également un rôle important dans la plus haute susceptibilité à la fibrillation auriculaire.

Dans ce même ordre d'idées, bien que la différence ne soit pas significative, nous pouvons voir que les souris AT1R mâles (7/12, 58%) semblent avoir une tendance à être plus susceptible aux d'événements de fibrillation auriculaire comparativement aux souris CD-1 mâles sains (11/21, 52%). Par contre, les études réalisées dans notre modèle pathologique ont été effectuées chez des mâles d'une lignée de souris (C57BL/6) ayant une concentration plasmatique d'androgènes inférieure aux autres lignées (Figure 23). Ainsi, il est possible qu'en utilisant des souris mâles CD-1 surexprimant AT1R, nous pourrions voir une plus grande diminution de connexines 40, en lien avec le niveau plasmatique d'androgène; car nous avons démontré que suite à une orchectomie, l'expression d'ARNm des connexines 40 est augmentée comparativement aux souris mâles intacts. Bref, il serait intéressant de vérifier cette théorie dans notre modèle pathologique, soit en ajoutant des pastilles de DHT aux souris C57BL/6 pour amener leur niveau d'androgène plasmatique à un niveau similaire aux souris CD-1, ou en créant le modèle de surexpression d'AT1R chez les souris CD-1. Nous croyons que dans les deux cas, la diminution d'ARNm de connexines 40 ainsi que les événements de fibrillation auriculaire seront davantage accentués en présence d'androgènes.

Le laboratoire a précédemment étudié l'influence d'une surexpression d'AT1R sur les propriétés électrophysiologiques ventriculaires chez les souris mâles et femelles et il a démontré que les souris femelles présentaient une plus grande mortalité que les mâles, due entre autre à une plus grande relâche spontanée de Ca^{2+} du réticulum sarcoplasmique via les RyR2. Également dans cette même étude, le laboratoire a démontré que les courants Na^+ , K^+ et Ca^{2+} de type-L ventriculaires sont diminués chez les souris AT1R comparativement aux souris contrôles, autant chez les mâles que les femelles.[365] Grâce à ces études, nous nous apercevons que la régulation par le système rénine-angiotensine est différente entre les oreillettes et les ventricules. En effet, mes résultats ne montrent qu'une réduction d' I_{Na} et de l'expression d'ARNm des connexines 40 entre les souris AT1R et les souris témoins. Il serait donc intéressant de vérifier les différences mâles-femelles au niveau de l'électrophysiologie auriculaire dans ce modèle de souris surexprimant le récepteur de type 1 à l'angiotensine II. Bien que nous n'ayons pas vu de différence électrophysiologique entre les souris mâles-femelles CD-1 au niveau des oreillettes, il est tout de même possible de voir une différence au niveau de l'homéostasie calcique entre les sexes dans ce modèle pathologique. Bref, basée sur les résultats de cette thèse, il est possible que les souris femelles AT1R présentent une expression génique plus élevée de connexines 40 dans les oreillettes comparativement aux mâles, mais possèdent plus d'événements de relâche spontanée de Ca^{2+} du réticulum sarcoplasmique et elles seraient autant susceptibles aux arythmies supraventriculaires liées à la conduction de l'impulsion électrique que les mâles. Ainsi, nous pourrions prouver d'avantage que le système rénine-angiotensine et le sexe masculin sont deux importants facteurs de risque impliqués dans la plus haute prévalence de fibrillation auriculaire.

4.5 – Implications potentielles

Bien que plusieurs facteurs soient impliqués dans le développement de la FA, nous avons démontré le rôle des Cx40 dans les différences mâles-femelles, expliquant au moins en partie la plus haute prévalence de FA chez les mâles. Parallèlement, nous avons démontré que les Cx40 et le courant Na^+ semblent être des facteurs impliqués dans la FA en lien avec la stimulation d'AngII. Une diminution d'expression de connexines peut expliquer l'augmentation des

événements de réentrée qui sont impliqués dans l'initiation et le maintien de la FA. Bref, cette thèse nous a permis d'identifier d'importants substrats de la fibrillation auriculaire : les androgènes, les connexines 40 et le courant Na^+ .

Présentement, les thérapies ne guérissent pas la FA, mais tendent à contrôler les symptômes, en offrant une meilleure qualité de vie, soit via l'ablation, la cardioversion électrique et les médicaments. Brièvement, les méthodes d'ablation et de cardioversion électrique permettent de réinitialiser le rythme cardiaque; alors que les médicaments utilisés lors d'événements de fibrillation auriculaire diminuent les risques d'AVC (anticoagulants et antiplaquettaires) et contrôlent le rythme et la fréquence cardiaque (bloqueurs de canaux ioniques).

Ainsi, les approches thérapeutiques traditionnelles présentement utilisées dans le but de contrôler le rythme et la fréquence cardiaque sont les bloqueurs de canaux Na^+ , K^+ et Ca^{2+} et les β -bloqueurs. Effectivement, les bloqueurs de canaux Na^+ et K^+ corrigent le rythme cardiaque, tandis que les β -bloqueurs et les bloqueurs calciques contrôlent la fréquence cardiaque en diminuant la réponse ventriculaire via une réduction de la conduction au niveau du nœud sino-atrial et auriculo-ventriculaire. Une autre forme de thérapie qui est présentement sous étude chez l'homme est l'utilisation de peptides antiarythmiques (PAA). Ces peptides permettent, par exemple, de rétablir le rythme cardiaque, réduire le délai dans la propagation électrique, augmenter les communications entre les jonctions gaps et maintenir l'ouverture de ces jonctions gaps.[382-385] Ces peptides possèdent des effets antiarythmiques sans altérer les potentiels d'action transmembranaire, donc sans avoir d'effets sur les canaux ioniques. Ainsi, il a été démontré que les effets de ces PAA consistent à améliorer le couplage cellulaire et à augmenter la conductance des jonctions gap suite à une activation des $\text{PKC}\alpha$ qui phosphorylent davantage les connexines. Brièvement, les PAA tels que l'AAP10 et son analogue, le rotigaptide, augmentent la phosphorylation des Cx43 favorisant la communication intercellulaire. Bien que le rotigaptide possède une plus grande affinité pour les Cx43 et que les Cx40 sont majoritairement exprimées au niveau des oreillettes, certains auteurs ont démontré que le traitement avec le rotigaptide augmente significativement la vitesse de conduction auriculaire

chez les lapins avec une surcharge volumique, mais ne diminuait pas la susceptibilité d'induire des tachyarythmies auriculaires.[386] Par ailleurs, Guerra *et al.* ont montré que l'utilisation du rotigaptide réduit la vulnérabilité de fibrillation auriculaire dans un modèle de régurgitation mitrale canine, mais pas dans un modèle d'insuffisance cardiaque canine.[387] Par ailleurs, le GAP-134 (analogue non-peptidique du rotigaptide) améliore la conduction entre les connexines en augmentant la propagation électrique et diminue ainsi la vulnérabilité à la fibrillation auriculaire. De plus, plusieurs auteurs ont démontré que ces PAA antagonisent la déphosphorylation des connexines 43 et accroît la phosphorylation de ces dernières.[388-390] Malheureusement, en ce moment les PAA ne sont pas aussi efficaces sur les Cx40 que les Cx43. Il est donc possible que dans certaines pathologies telles que la surcharge volumique, l'expression de connexines 43 est augmentée pour compenser les variations de connexines 40 auriculaires, pouvant expliquer les effets observés au niveau auriculaire suite à l'utilisation du rotigaptide.[391] Bien que plusieurs études démontrent un certain bénéfice d'utiliser les PAA dans les thérapies contre la FA, ces peptides semblent être plus efficaces dans les formes de fibrillations auriculaires associées à un découplage fonctionnel (par exemple FA due à une ischémie) que les FA dues à un découplage structurel, tel que la fibrose. En effet, une FA chronique est souvent associée à de la fibrose qui résulte d'un changement structurel. Le dépôt de collagène lors de la fibrose cause une séparation entre les cellules et une augmentation de la communication (vitesse de conduction) ou de l'activité (phosphorylation) des connexines entre les jonctions gap est peu utile dans ces cas-ci, car les cellules ne sont plus en contact entre elles, mais sont plutôt séparées par des fibroblastes. Effectivement, une molécule qui augmente le nombre de communications ou améliore le couplage de connexines intercellulaires est plus intéressant dans les cas de FA causées par un découplage structurel, qui semble être le cas dans les FA liées à la différence sexuelle et au système rénine-angiotensine. L'utilisation des PAA a démontré une augmentation de la conduction auriculaire sans diminuer la susceptibilité ni la durée de la FA.[386, 392] En somme, comme nous l'avons démontré, outre la diminution des courants Na^+ qui affecte la susceptibilité à la FA dans notre modèle de souris AT1R, la diminution de l'expression des Cx40 est également observée dans la plus haute incidence de FA dans nos deux modèles d'étude. Il serait donc intéressant dans un contexte de médecine de précision de développer des agents pharmaceutiques spécifiques aux formes de FA et similaires aux PAA avec une plus grande spécificité pour les Cx40, car en ce moment, les PAA semblent

posséder une plus grande affinité pour les Cx43 et Cx45 [157, 393] et ceci suggère que la phosphorylation des connexines 40 et 43 passent par différents mécanismes moléculaires.

4.6 – L'âge : facteur de risque dans la fibrillation auriculaire

L'âge augmente substantiellement les risques de maladies cardiovasculaires, telles que l'hypertension, l'athérosclérose, l'hypertrophie ventriculaire, l'insuffisance cardiaque et la fibrillation auriculaire.[13] En effet, l'incidence de FA atteint plus de 10% chez les personnes âgées de plus de 80 ans. Nous avons débuté des études préliminaires et la Figure 22 montre que l'âge tend à augmenter la susceptibilité à la FA (52% versus 66% chez les souris CD-1 mâles de 5 mois et de 10 mois respectivement). Par contre, ces résultats ne sont pas significativement différents pour le moment, car le nombre de souris rapportées dans ces études préliminaires est encore très faible. De plus, il a été rapporté que chez les personnes âgées, les substrats responsables de la FA sont la fibrose et la dilatation auriculaire qui agissent de concert avec les foyers ectopiques des veines pulmonaires.[394] Ainsi, des phénomènes tels que les post-dépolarisations retardées et la réentrée sont souvent la cause de l'initiation de la FA. Tel que mentionné précédemment, les DADs sont causées par une augmentation de l'activité inverse de NCX et de la fuite calcique via les RyR2. En effet, une hyperphosphorylation de PKA cause une phosphorylation accrue de PLB qui entraîne une augmentation de la recapture calcique du cytosol par SERCA2a et une surcharge calcique au niveau du réticulum sarcoplasmique provoque une dérégulation de RyR2 qui relâchera spontanément les ions calciques vers le cytosol.[235, 238, 395] Puis, cette augmentation de concentration calcique conduit vers une élévation de l'activité inverse de NCX (entrée de trois ions Na^+ contre un ion Ca^{2+}). Les réentrées sont majoritairement causées par des changements électrophysiologiques causant une diminution de la durée du potentiel d'action et de la période réfractaire effective. Certaines études ont démontré une réduction d' I_{CaL} ,[396] une augmentation d' I_{to} [397] et d' I_{KAch} [398] chez les patients âgés comparativement aux plus jeunes.

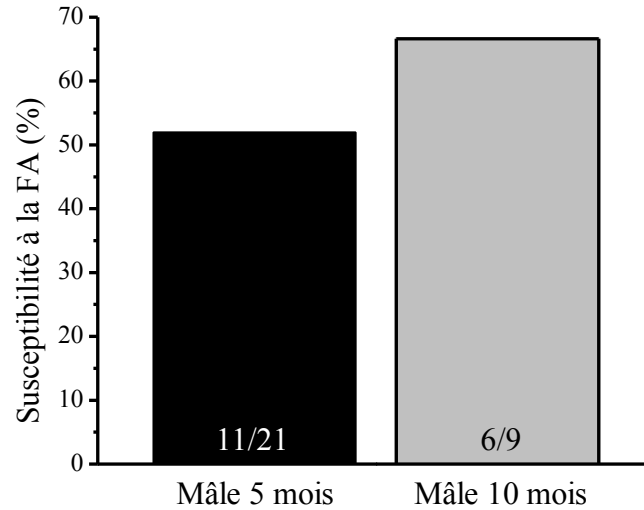


Figure 22. Effet de l'âge sur l'incidence à la fibrillation auriculaire chez les souris CD-1.

En lien avec nos données, où nous associons une augmentation du risque de FA à une diminution de connexines 40 et du courant Na^+ , plusieurs études démontrent une diminution de la vitesse de propagation et de la conduction chez les personnes âgées comparativement aux jeunes adultes.[399, 400] Ainsi, cette diminution de la vitesse de conduction est souvent associée à une diminution d' I_{Na} [149, 152] et de l'expression des connexines 40 et 43 dans des modèles de remodelage électrophysiologique en lien avec la FA.[401, 402]

L'âge étant un facteur de risque important dans le développement de la FA, nous pourrions étudier davantage l'effet de l'âge en comparant les variations électrophysiologiques entre les souris de 4-5 mois et celles de 9-10 mois. Ceci nous permettrait de déterminer une fois de plus si la plus haute susceptibilité à la FA est due à une plus faible expression de connexines 40 suite à une augmentation de la fibrose et de la dilatation auriculaire en lien avec l'âge.

4.7 – L'exercice physique d'endurance et la fibrillation auriculaire

Tel que mentionné dans l'introduction, l'exercice physique d'endurance est souvent lié à la fibrillation auriculaire. L'exercice d'endurance augmente jusqu'à 1,5 fois le risque de

fibrillation auriculaire.[403] Il existe potentiellement un lien entre l'exercice et l'activation du SRA. Tout d'abord, l'entraînement physique induit une hypertrophie cardiaque excentrique, signifiant que la taille des cardiomyocytes augmente en longueur accroissant ainsi le volume de la chambre ventriculaire, contrairement aux hypertrophies pathologiques qui sont concentriques causant un épaississement de la paroi ventriculaire et une diminution du volume de la chambre ventriculaire. Inversement à l'hypertrophie excentrique, l'hypertrophie concentrique n'augmente pas la taille des cardiomyocytes, mais augmente plutôt le nombre de cardiomyocytes en disposition parallèle.[404, 405] Par ailleurs, il est connu que la stimulation des AT1R est impliquée dans l'hypertrophie cardiaque et que ces récepteurs peuvent également être activés par des mécanismes indépendants de l'AngII.[343, 406-409] Une étude par Barauna *et al.* a démontré qu'une augmentation de l'activation de la voie de signalisation des AT1R contribuait à l'hypertrophie cardiaque observée suite à un entraînement physique d'endurance. Cette augmentation d'activité d'AT1R n'était pas corrélée à une augmentation d'AngII ou toute autre molécule du SRA.[410] De plus, durant un exercice d'endurance, les cardiomyocytes subissent un étirement mécanique qui peuvent activer les AT1R en l'absence d'une augmentation d'AngII. Malhotra *et al.* ont confirmé que l'étirement mécanique et l'AngII régulent différemment les molécules du SRA des cardiomyocytes (telles que l'angiotensinogène, la rénine, l'enzyme de conversion de l'angiotensine et les sous-types des récepteurs de l'AngII). Par ailleurs, les auteurs ont indiqué que l'utilisation d'un antagoniste des AT1R, le Losartan, inhibait l'hypertrophie causée par la régulation à la hausse des AT1R suite à l'exercice d'endurance. Donc, les activités d'endurance causent en tout premier lieu une sécrétion autocrine aigue d'AngII. Puis, en parallèle, l'étirement mécanique entraîne une augmentation de production locale d'AngII de façon chronique et stimule également l'expression d'ARNm et de protéines du SRA indépendamment de l'AngII. Ainsi, l'activation des AT1R par les AngII est amplifiée due à une double production d'AngII via les deux mécanismes mentionnés.[406] Bref, ces études indiquent une relation entre l'exercice physique d'endurance et l'activation du SRA. Cet accroissement de l'activité des AT1R peut causer une hypertrophie cardiaque favorisant le déclenchement de la fibrillation auriculaire notée chez les athlètes pratiquant des sports d'endurance. Il serait donc plus intéressant de développer des thérapies pouvant réduire l'activité des récepteurs de l'angiotensine II de type 1 que des

inhibiteurs de l'enzyme de conversion, car les effets néfastes notés semblent être causés par l'activation des AT1R.

Rappelons que la taille des oreillettes en condition basale est plus élevée chez l'homme comparativement à la femme, ce qui peut contribuer à la plus haute incidence de FA chez les hommes.[411-413] De plus, suite à l'exercice d'endurance, le volume des oreillettes augmente de façon plus importante chez l'homme que chez la femme et cette différence peut être due à un niveau de fibrose auriculaire plus faible chez la femme en lien avec l'activité physique.[201] Par ailleurs, il a été observé que les athlètes ont une prolongation de l'onde P et cette prolongation est possiblement due à un retard de conduction inter et intra-auriculaire, en lien avec la dilatation auriculaire.[414] Ainsi, le remodelage structurel (dilatation auriculaire causant un retard de conduction) est un facteur de risque indépendant impliqué dans le développement et le maintien de la FA chez les athlètes. Ces observations cliniques peuvent donc potentiellement expliquer la plus haute incidence de fibrillation auriculaire chez les athlètes masculins comparativement aux athlètes féminins. Les hommes qui pratiquent des sports d'endurance sont plus à risque de fibrillation auriculaire, car leurs oreillettes subissent un remodelage auriculaire plus important que les athlètes féminins. Puis, en lien avec la première étude sur le système rénine-angiotensine, ce remodelage auriculaire (hypertrophie), suite à l'exercice d'endurance, cause également un étirement mécanique entraînant une synthèse locale d'AngII. Ainsi, l'AngII active les AT1R et ces récepteurs sont grandement impliqués dans l'apparition d'effets néfastes au niveau cardiovasculaire. Bref, la plus haute incidence observée chez les athlètes mâles peut être due à ces deux facteurs de risque, soit l'activation chronique du SRA et le sexe masculin. Ces facteurs de risque causent un remodelage structurel qui est la principale explication de la différence mâle-femelle dans l'incidence de fibrillation auriculaire chez les athlètes pratiquant des sports d'endurance.

4.8 – Le rôle des hormones sexuelles dans le système cardiovasculaire

Dans le système cardiovasculaire humain, les hormones œstrogéniques et leurs récepteurs agissent via des mécanismes génomiques et non-génomiques. Tout d'abord,

l'œstrogène est responsable de la protection cardiaque chez la femme pré-ménopausée et cette protection disparaît après la ménopause, alors que les niveaux d'œstrogènes diminuent considérablement.[415, 416] Cependant, dans le cadre de cette thèse, nous démontrons que les œstrogènes ne jouent aucun rôle dans la protection contre la fibrillation auriculaire. En effet, la Figure 18 montre que l'incidence à la FA demeure deux fois supérieure chez l'homme même après l'âge de 55 ans, soit après l'occurrence de la ménopause chez la majorité des femmes, démontrant ainsi que l'œstrogène ne possède pas d'effet protecteur au niveau de la prévalence à la FA. Ensuite, comparativement aux souris mâles intactes, nos résultats démontrent une diminution d'événements de fibrillation auriculaire chez les souris ORC, donc après avoir diminué de façon importante les niveaux d'androgènes. Dans le but de soutenir ces résultats, nous avons utilisé la lignée de souris C57BL/6, où les mâles ont un faible niveau d'androgènes comparativement aux autres lignées souris dont les CD-1.[334] Ainsi, la Figure 23 montre que les souris mâles C57BL/6 en plus d'avoir des niveaux d'androgènes plasmatiques réduits ont une incidence d'épisodes de fibrillation auriculaire similaire aux souris mâles ORC, qui est réduite par rapport aux mâles CD-1 intacts. En effet, si les œstrogènes avaient un effet protecteur, aucune réduction d'événements de fibrillation auriculaire aurait été observée suite à l'orchectomie ou chez les souris mâles C57BL/6. Pour tester cette hypothèse, nous pourrions traiter les souris mâles ORC avec de la dihydrotestostérone (DHT) pendant 60 jours et déterminer leur susceptibilité à la fibrillation auriculaire. L'utilisation de la DHT est préférée, car contrairement à la testostérone, la DHT n'est pas convertie en œstrogène.[334] Ceci nous permettrait de démontrer le rôle des androgènes dans la FA et potentiellement expliqué la plus haute incidence à la FA chez les mâles. En effet, les souris mâles ORC traitées à la DHT devraient présenter une susceptibilité à la FA plus élevée comparativement aux souris CD-1 mâles ORC et femelles.

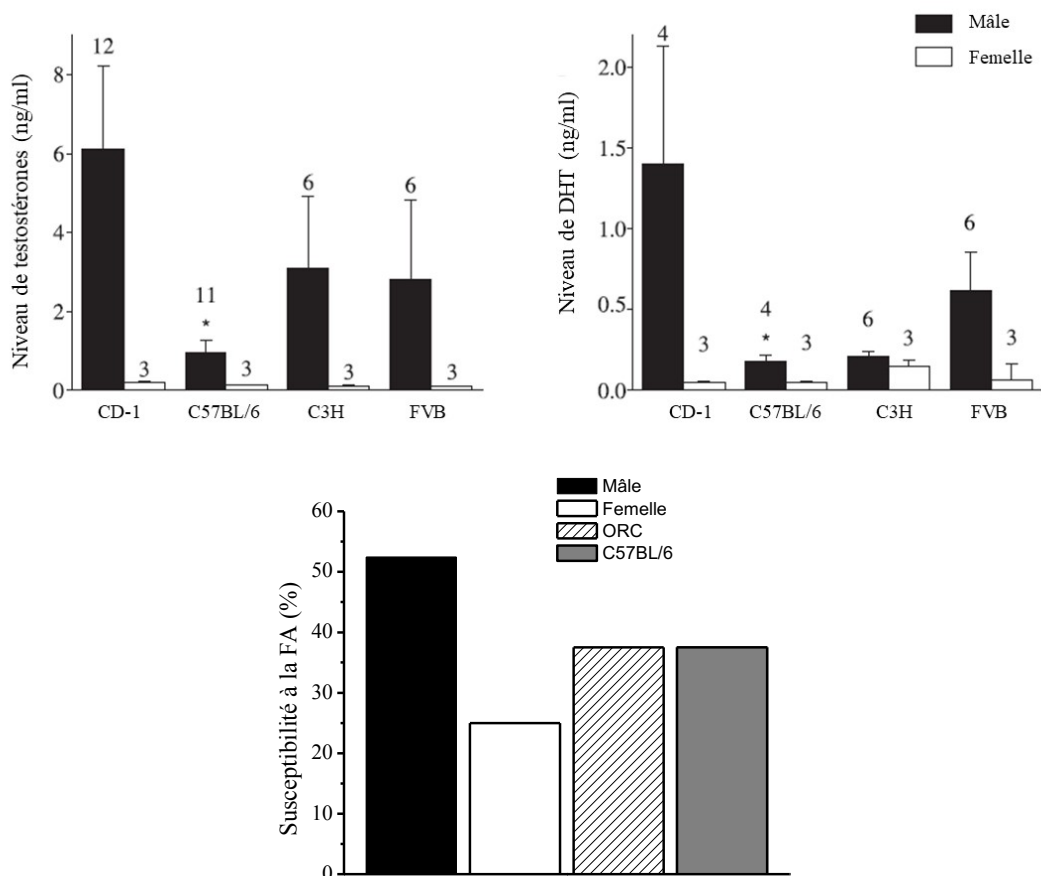


Figure 23. Niveaux d'androgènes dans les différentes lignées de souris et la susceptibilité à la FA dans nos modèles de souris. Haut. Niveaux de testostérone et de DHT plasmatiques observées dans quatre lignées de souris (Figure tirée de [334]). **Bas.** Susceptibilité à la fibrillation auriculaire chez les souris mâles et femelles CD-1 et mâles C57BL/6 de 4 à 5 mois.

Ces observations cliniques et expérimentales sont à la base de notre hypothèse initiale, stipulant que les androgènes possèdent un rôle important dans la plus haute incidence à la fibrillation auriculaire chez les hommes. Brièvement, les effets à long terme de l'œstrogène sont médiés via les récepteurs α et β de l'œstrogène par l'altération de l'expression génique et de la synthèse protéique (action génomique);[417] tandis que la réponse non-génomique est induite par l'activation de la guanosine monophosphate cyclique (GMPc) et des voies de signalisation intracellulaire.[418] Plusieurs mécanismes par lesquels l'œstrogène exerce son effet protecteur ont été suggérés, soit grâce à la réduction du stress oxydatif,[419] de l'inflammation,[420] de

l'hypertrophie et de son effet anti-apoptotique.[421] Il a été rapporté que les thérapies de remplacements d'hormones, ajout d'œstrogènes, réduisent le risque de maladies cardiovasculaires chez les femmes post-ménopausées.[422, 423] Par ailleurs, l'ajout d'œstrogènes chez l'homme diminue le remodelage structurel et fonctionnel, qui a été causé par une augmentation du volume, et ralentit la progression de la dysfonction ventriculaire gauche.[424, 425] Par contre, ces thérapies peuvent être potentiellement dangereuses, car l'œstrogène et la progestérone possèdent également des effets thromboemboliques;[426, 427] et dans les cas de FA, où les AVC ischémiques sont les conséquences les plus fréquentes de mortalité, il est important d'évaluer les effets bénéfiques versus néfastes avant d'envisager des thérapies avec des hormones sexuelles féminines.

4.9 – Limitations et directions futures

Bien que certaines propriétés électriques tels que le potentiel d'action et la fréquence cardiaque diffèrent entre la souris et l'humain, les mécanismes impliqués dans la régulation des courants ioniques et les différences électrophysiologiques liées au sexe observées chez l'humain sont également présentes chez la souris. En effet, le cœur murin exprime les récepteurs aux hormones sexuelles stéroïdiennes et possède les mêmes bases moléculaires et électrophysiologiques que le cœur humain. Ainsi, la souris possède une majorité de courants ioniques auriculaires similaires aux humains, tels que I_{Na} , I_{CaL} , I_{to} , I_{Kur} , I_{K1} et I_{KACH} . Par contre, certains courants ioniques auriculaires présents chez l'humain ne jouent pas un rôle aussi important chez la souris; par exemple, I_{Kr} et I_{Ks} ne sont pas d'une importance significative dans la repolarisation auriculaire chez la souris. De plus, les courants ioniques modulés par les niveaux d'hormones sexuelles chez l'humain sont également présents chez la souris.[297, 333-336, 342] Bien que certaines différences entre les souris et l'humain nécessitent d'être pris en considération lors des études de translation entre les deux modèles, la similarité des caractéristiques mentionnées fait de la souris un modèle intéressant pour les études fonctionnelles en lien avec les différences mâles-femelles et les régulations hormonales.

D'autres limitations peuvent être soulevées, par exemple, les fibrillations auriculaires observées dans notre étude ne sont pas des événements spontanés, mais plutôt des FA induites. Nos épisodes de FA doivent être induites, car nos souris ne sont pas malades; ce qui est

totallement différent des observations cliniques, où les patients sont atteints de FA. L'avantage offert par notre modèle est la possibilité de découvrir les substrats impliqués dans la FA qui sont différents chez les mâles et les femelles sans facteurs de risque confondants, tels que l'âge et l'hypertension.

Bien que nous ayons montré l'implication des connexines 40 et des courants Na^+ dans la plus haute incidence de FA chez les souris mâles et les souris transgénique surexprimant les AT1R, nous n'avons pas fait d'études d'immunohistochimie. Ces expériences nous permettraient de déterminer la localisation et la latéralisation des connexines et le niveau de phosphorylation des connexines ainsi que des canaux sodiques. Des études d'immunobuvardage de type western et d'immunofluorescence seraient intéressantes. Par ailleurs, dans le but de renforcer ces découvertes au niveau des troubles de conduction auriculaire impliquées dans l'apparition de la FA, nous pouvons réaliser des études d'imagerie optique et déterminer si la présence de réentrée est plus élevée chez les souris transgéniques AT1R et mâles comparativement aux contrôles et femelles, respectivement. Ces études d'imagerie nous permettraient également d'évaluer les différences de vitesse de conduction auriculaire entre les modèles murins. En effet, une réduction de la vitesse de conduction en lien avec les niveaux d'androgène plasmatique pourrait supporter notre résultats montrant une diminution génique de Cx40 chez les souris AT1R et les mâles comparativement à leur contrôles respectifs.

Il est important de préciser que grâce aux travaux de cette thèse, nous avons identifié une partie des substrats qui sont possiblement impliqués dans la plus haute incidence à la fibrillation auriculaire. Bien que cette thèse se soit principalement concentrée sur le remodelage électrophysiologique tel que mentionné dans l'introduction, il existe trois autres types de remodelage qui jouent un rôle dans le développement et le maintien de la fibrillation auriculaire, soit le remodelage structurel, contractile et neuronal. Ainsi, nous n'avons pas étudié les niveaux de fibrose, les protéines impliquées dans la modulation de l'homéostasie calcique et le système nerveux autonome.

La grande limitation du modèle humain en ce moment est le phénotype et le génotype des tissus cardiaques. En plus d'être difficilement accessibles, les tissus cardiaques que nous

recevons proviennent souvent de patients possédant plusieurs maladies cardiaques ou qui sont gravement malades (car les tissus cardiaques proviennent de patients transplantés ou prélevés lors de chirurgie cardiaque), ce qui augmentent grandement les différentes variables pouvant affecter de façon importante l'électrophysiologie cardiaque. Ceci complique les études où nous essayons de déterminer les différents substrats et facteurs de risque qui peuvent jouer un rôle dans les différentes formes d'arythmies cardiaques, car il est possible que ces arythmies se soient développées suites à une complication, à une maladie ou à une variation génétique.

Chapitre 5 – Conclusion

En résumé, les travaux de cette thèse ont été dédiés à l'identification de substrats impliqués dans la fibrillation auriculaire au niveau de deux facteurs de risque, soit le système rénine-angiotensine et le sexe masculin. Grâce à un modèle d'activation chronique du système rénine-angiotensine, notre première étude a démontré, en plus des différences de régulations électrophysiologiques entre les ventricules et les oreillettes, que la plus haute incidence de FA en lien avec le SRA est due à une baisse du courant Na^+ et de l'expression génique de Cx40. Puis, la deuxième étude, nous a permis de déterminer les différentes propriétés électrophysiologiques entre les mâles et femelles. Par ailleurs, cette étude nous a permis de démontrer un lien entre les androgènes, les Cx40 et la FA. En effet, les androgènes diminuent l'expression génique de Cx40, causant une augmentation d'événements de FA. Finalement, les études présentées dans cette thèse nous a permis d'exposer d'intéressantes voies dans le développement et le maintien de la fibrillation auriculaire, soit celle de la conduction et de l'initiation de l'impulsion électrique cardiaque. En conclusion, ce travail contribuera à l'identification de nouvelles cibles thérapeutiques spécifiques au sexe et au développement de thérapies de précision ciblant entre autres les connexines et les courants sodiques. Sur la base de nos travaux, il est possible que des médicaments tels que les peptides antiarythmiques augmentant l'expression de Cx40 ou des antagonistes des récepteurs de type 1 de l'angiotensine II prennent une plus grande importance dans le traitement de la fibrillation auriculaire.

Bibliographie

1. Zoni-Berisso, M., F. Lercari, T. Carazza and S. Domenicucci, *Epidemiology of atrial fibrillation: European perspective*. Clin Epidemiol, 2014. **6**: p. 213-20.
2. Krijthe, B.P., A. Kunst, E.J. Benjamin, G.Y. Lip, O.H. Franco, A. Hofman, J.C. Witteman, B.H. Stricker and J. Heeringa, *Projections on the number of individuals with atrial fibrillation in the European Union, from 2000 to 2060*. Eur Heart J, 2013. **34**(35): p. 2746-51.
3. Chugh, S.S., R. Havmoeller, K. Narayanan, D. Singh, M. Rienstra, E.J. Benjamin, R.F. Gillum, Y.H. Kim, J.H. McAnulty, Jr., Z.J. Zheng, M.H. Forouzanfar, M. Naghavi, G.A. Mensah, M. Ezzati, and C.J. Murray, *Worldwide epidemiology of atrial fibrillation: a Global Burden of Disease 2010 Study*. Circulation, 2014. **129**(8): p. 837-47.
4. American College of Cardiology, F., A. American Heart, C. European Society of, S. Heart Rhythm, L.S. Wann, A.B. Curtis, K.A. Ellenbogen, N.A. Estes, M.D. Ezekowitz, W.M. Jackman, C.T. January, J.E. Lowe, R.L. Page, D.J. Slotwiner, W.G. Stevenson, C.M. Tracy, V. Fuster, L.E. Ryden, D.S. Cannom, H.J. Crijns, A.B. Curtis, K.A. Ellenbogen, J.L. Halperin, J. Le Heuzey, G.N. Kay, J.E. Lowe, S.B. Olsson, E.N. Prystowsky, J.L. Tamargo, and L.S. Wann, *Management of patients with atrial fibrillation (compilation of 2006 ACCF/AHA/ESC and 2011 ACCF/AHA/HRS recommendations): a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on practice guidelines*. Circulation, 2013. **127**(18): p. 1916-26.
5. Calkins, H., K.H. Kuck, R. Cappato, J. Brugada, A.J. Camm, S.A. Chen, H.J. Crijns, R.J. Damiano, Jr., D.W. Davies, J. DiMarco, J. Edgerton, K. Ellenbogen, M.D. Ezekowitz, D.E. Haines, M. Haissaguerre, G. Hindricks, Y. Iesaka, W. Jackman, J. Jalife, P. Jais, J. Kalman, D. Keane, Y.H. Kim, P. Kirchhof, G. Klein, H. Kottkamp, K. Kumagai, B.D. Lindsay, M. Mansour, F.E. Marchlinski, P.M. McCarthy, J.L. Mont, F. Morady, K. Nademanee, H. Nakagawa, A. Natale, S. Nattel, D.L. Packer, C. Pappone, E. Prystowsky, A. Raviele, V. Reddy, J.N. Ruskin, R.J. Shemin, H.M. Tsao, D. Wilber, C. Heart Rhythm Society Task Force on, and F. Surgical Ablation of Atrial, *2012 HRS/EHRA/ECAS expert consensus statement on catheter and surgical ablation of atrial*

- fibrillation: recommendations for patient selection, procedural techniques, patient management and follow-up, definitions, endpoints, and research trial design: a report of the Heart Rhythm Society (HRS) Task Force on Catheter and Surgical Ablation of Atrial Fibrillation. Developed in partnership with the European Heart Rhythm Association (EHRA), a registered branch of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Cardiac Arrhythmia Society (ECAS); and in collaboration with the American College of Cardiology (ACC), American Heart Association (AHA), the Asia Pacific Heart Rhythm Society (APHRS), and the Society of Thoracic Surgeons (STS). Endorsed by the governing bodies of the American College of Cardiology Foundation, the American Heart Association, the European Cardiac Arrhythmia Society, the European Heart Rhythm Association, the Society of Thoracic Surgeons, the Asia Pacific Heart Rhythm Society, and the Heart Rhythm Society. Heart Rhythm, 2012. 9(4): p. 632-696 e21.*
6. Macle, L., J.A. Cairns, J.G. Andrade, L.B. Mitchell, S. Nattel, A. Verma and C.C.S.A.F.G. Committee, *The 2014 Atrial Fibrillation Guidelines Companion: A Practical Approach to the Use of the Canadian Cardiovascular Society Guidelines. Can J Cardiol, 2015. 31(10): p. 1207-18.*
 7. January, C.T., L.S. Wann, J.S. Alpert, H. Calkins, J.E. Cigarroa, J.C. Cleveland, Jr., J.B. Conti, P.T. Ellinor, M.D. Ezekowitz, M.E. Field, K.T. Murray, R.L. Sacco, W.G. Stevenson, P.J. Tchou, C.M. Tracy, C.W. Yancy, and G. American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice, *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 Practice Guidelines and the Heart Rhythm Society. J Am Coll Cardiol, 2014. 64(21): p. e1-76.*
 8. Wolfe, C.D., N.A. Taub, E.J. Woodrow and P.G. Burney, *Assessment of scales of disability and handicap for stroke patients. Stroke, 1991. 22(10): p. 1242-4.*
 9. Marzenke, M., I. Piccini, I. Mengarelli, J. Fell, A. Ropke, G. Seebohm, A.O. Verkerk and B. Greber, *Cardiac Subtype-Specific Modeling of Kv1.5 Ion Channel Deficiency Using Human Pluripotent Stem Cells. Front Physiol, 2017. 8: p. 469.*
 10. Kotecha, D. and J.P. Piccini, *Atrial fibrillation in heart failure: what should we do? Eur Heart J, 2015. 36(46): p. 3250-7.*

11. Anter, E., M. Jessup and D.J. Callans, *Atrial fibrillation and heart failure: treatment considerations for a dual epidemic*. *Circulation*, 2009. **119**(18): p. 2516-25.
12. Reiffel, J.A., *Atrial fibrillation and stroke: epidemiology*. *Am J Med*, 2014. **127**(4): p. e15-6.
13. Schnabel, R.B., L.M. Sullivan, D. Levy, M.J. Pencina, J.M. Massaro, R.B. D'Agostino, Sr., C. Newton-Cheh, J.F. Yamamoto, J.W. Magnani, T.M. Tadros, W.B. Kannel, T.J. Wang, P.T. Ellinor, P.A. Wolf, R.S. Vasan, and E.J. Benjamin, *Development of a risk score for atrial fibrillation (Framingham Heart Study): a community-based cohort study*. *Lancet*, 2009. **373**(9665): p. 739-45.
14. Barnes, J.N., D.P. Casey, C.N. Hines, W.T. Nicholson and M.J. Joyner, *Cyclooxygenase inhibition augments central blood pressure and aortic wave reflection in aging humans*. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2012. **302**(12): p. H2629-34.
15. Rich, J.D., T. Thenappan, B. Freed, A.R. Patel, R.A. Thisted, R. Childers and S.L. Archer, *QTc prolongation is associated with impaired right ventricular function and predicts mortality in pulmonary hypertension*. *Int J Cardiol*, 2013. **167**(3): p. 669-76.
16. Zhang, G.Q. and W. Zhang, *Heart rate, lifespan, and mortality risk*. *Ageing Res Rev*, 2009. **8**(1): p. 52-60.
17. Xiao, H.D., S. Fuchs, D.J. Campbell, W. Lewis, S.C. Dudley, Jr., V.S. Kasi, B.D. Hoit, G. Keshelava, H. Zhao, M.R. Capecchi, and K.E. Bernstein, *Mice with cardiac-restricted angiotensin-converting enzyme (ACE) have atrial enlargement, cardiac arrhythmia, and sudden death*. *Am J Pathol*, 2004. **165**(3): p. 1019-32.
18. Fabritz, L., D. Damke, M. Emmerich, S.G. Kaufmann, K. Theis, A. Blana, L. Fortmuller, S. Laakmann, S. Hermann, E. Aleynichenko, J. Steinfurt, D. Volkery, B. Riemann, U. Kirchhefer, M.R. Franz, G. Breithardt, E. Carmeliet, M. Schafers, S.K. Maier, P. Carmeliet, and P. Kirchhof, *Autonomic modulation and antiarrhythmic therapy in a model of long QT syndrome type 3*. *Cardiovasc Res*, 2010. **87**(1): p. 60-72.
19. Janssen, B.J. and J.F. Smits, *Autonomic control of blood pressure in mice: basic physiology and effects of genetic modification*. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2002. **282**(6): p. R1545-64.

20. Greco, M., M. Floria and C.A. Georgescu, *Abnormal atrioventricular node conduction and atrioventricular nodal reentrant tachycardia in patients older versus younger than 65 years of age*. Pacing Clin Electrophysiol, 2009. **32 Suppl 1**: p. S98-100.
21. Noujaim, S.F., E. Lucca, V. Munoz, D. Persaud, O. Berenfeld, F.L. Meijler and J. Jalife, *From mouse to whale: a universal scaling relation for the PR Interval of the electrocardiogram of mammals*. Circulation, 2004. **110**(18): p. 2802-8.
22. Stiles, M.K., C.X. Wong, B. John, P. Kuklik, A.G. Brooks, D.H. Lau, H. Dimitri, L. Wilson, G.D. Young and P. Sanders, *Characterization of atrial remodeling studied remote from episodes of typical atrial flutter*. Am J Cardiol, 2010. **106**(4): p. 528-34.
23. Roberts-Thomson, K.C., B. John, S.G. Worthley, A.G. Brooks, M.K. Stiles, D.H. Lau, P. Kuklik, N.J. Shipp, J.M. Kalman and P. Sanders, *Left atrial remodeling in patients with atrial septal defects*. Heart Rhythm, 2009. **6**(7): p. 1000-6.
24. Hansson, A., M. Holm, P. Blomstrom, R. Johansson, C. Luhrs, J. Brandt and S.B. Olsson, *Right atrial free wall conduction velocity and degree of anisotropy in patients with stable sinus rhythm studied during open heart surgery*. Eur Heart J, 1998. **19**(2): p. 293-300.
25. Stein, M., T.A. van Veen, C.A. Remme, M. Boulaksil, M. Noorman, L. van Stuijvenberg, R. van der Nagel, C.R. Bezzina, R.N. Hauer, J.M. de Bakker, and H.V. van Rijen, *Combined reduction of intercellular coupling and membrane excitability differentially affects transverse and longitudinal cardiac conduction*. Cardiovasc Res, 2009. **83**(1): p. 52-60.
26. Sawaya, S.E., Y.S. Rajawat, T.G. Rami, G. Szalai, R.L. Price, N. Sivasubramanian, D.L. Mann and D.S. Khoury, *Downregulation of connexin40 and increased prevalence of atrial arrhythmias in transgenic mice with cardiac-restricted overexpression of tumor necrosis factor*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2007. **292**(3): p. H1561-7.
27. Mancarella, S., Y. Yue, E. Karnabi, Y. Qu, N. El-Sherif and M. Boutjdir, *Impaired Ca²⁺ homeostasis is associated with atrial fibrillation in the alpha1D L-type Ca²⁺ channel KO mouse*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2008. **295**(5): p. H2017-24.
28. Odening, K.E., J.M. Nerbonne, C. Bode, M. Zehender and M. Brunner, *In vivo effect of a dominant negative Kv4.2 loss-of-function mutation eliminating I_(to,f) on atrial refractoriness and atrial fibrillation in mice*. Circ J, 2009. **73**(3): p. 461-7.

29. Schrickel, J.W., K. Brixius, C. Herr, C.S. Clemen, P. Sasse, K. Reetz, C. Grohe, R. Meyer, K. Tiemann, R. Schroder, W. Bloch, G. Nickenig, B.K. Fleischmann, A.A. Noegel, R.H. Schwinger, and T. Lewalter, *Enhanced heterogeneity of myocardial conduction and severe cardiac electrical instability in annexin A7-deficient mice*. Cardiovasc Res, 2007. **76**(2): p. 257-68.
30. Alcolea, S., T. Jarry-Guichard, J. de Bakker, D. Gonzalez, W. Lamers, S. Coppen, L. Barrio, H. Jongasma, D. Gros and H. van Rijen, *Replacement of connexin40 by connexin45 in the mouse: impact on cardiac electrical conduction*. Circ Res, 2004. **94**(1): p. 100-9.
31. Kaese, S. and S. Verheule, *Cardiac electrophysiology in mice: a matter of size*. Front Physiol, 2012. **3**: p. 345.
32. Carlstrom, M., E.Y. Lai, Z. Ma, A. Steege, A. Patzak, U.J. Eriksson, J.O. Lundberg, C.S. Wilcox and A.E. Persson, *Superoxide dismutase 1 limits renal microvascular remodeling and attenuates arteriole and blood pressure responses to angiotensin II via modulation of nitric oxide bioavailability*. Hypertension, 2010. **56**(5): p. 907-13.
33. Carroll, C.J., N. Suleman, S.M. Davidson, D.J. Faulkes, J.K. Diss, R. Knight, A. Stephanou, D.S. Latchman and P.A. Townsend, *Transgenic overexpression of HSP56 does not result in cardiac hypertrophy nor protect from ischaemia/reperfusion injury*. Int J Biochem Cell Biol, 2011. **43**(1): p. 74-9.
34. Moss, A.J. and R.S. Kass, *Long QT syndrome: from channels to cardiac arrhythmias*. J Clin Invest, 2005. **115**(8): p. 2018-24.
35. Fabiato, A., *Calcium-induced release of calcium from the cardiac sarcoplasmic reticulum*. Am J Physiol, 1983. **245**(1): p. C1-14.
36. Nerbonne, J.M. and R.S. Kass, *Molecular physiology of cardiac repolarization*. Physiol Rev, 2005. **85**(4): p. 1205-53.
37. Nerbonne, J.M., C.G. Nichols, T.L. Schwarz and D. Escande, *Genetic manipulation of cardiac K(+) channel function in mice: what have we learned, and where do we go from here?* Circ Res, 2001. **89**(11): p. 944-56.
38. Shah, M., F.G. Akar and G.F. Tomaselli, *Molecular basis of arrhythmias*. Circulation, 2005. **112**(16): p. 2517-29.

39. Guo, W., H. Li, F. Aimond, D.C. Johns, K.J. Rhodes, J.S. Trimmer and J.M. Nerbonne, *Role of heteromultimers in the generation of myocardial transient outward K⁺ currents*. *Circ Res*, 2002. **90**(5): p. 586-93.
40. Grammer, J.B., R.F. Bosch, V. Kuhlkamp and L. Seipel, *Molecular remodeling of Kv4.3 potassium channels in human atrial fibrillation*. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 2000. **11**(6): p. 626-33.
41. London, B., W. Guo, X. Pan, J.S. Lee, V. Shusterman, C.J. Rocco, D.A. Logothetis, J.M. Nerbonne and J.A. Hill, *Targeted replacement of Kv1.5 in the mouse leads to loss of the 4-aminopyridine-sensitive component of I(K,slow) and resistance to drug-induced qt prolongation*. *Circ Res*, 2001. **88**(9): p. 940-6.
42. Feng, J., B. Wible, G.R. Li, Z. Wang and S. Nattel, *Antisense oligodeoxynucleotides directed against Kv1.5 mRNA specifically inhibit ultrarapid delayed rectifier K⁺ current in cultured adult human atrial myocytes*. *Circ Res*, 1997. **80**(4): p. 572-9.
43. Aliot, E., A. Capucci, H.J. Crijns, A. Goette and J. Tamargo, *Twenty-five years in the making: flecainide is safe and effective for the management of atrial fibrillation*. *Europace*, 2011. **13**(2): p. 161-73.
44. Chen, L., K.J. Sampson and R.S. Kass, *Cardiac Delayed Rectifier Potassium Channels in Health and Disease*. *Card Electrophysiol Clin*, 2016. **8**(2): p. 307-22.
45. Bebarova, M., P. Matejovic, M. Pasek, Z. Horakova, J. Hosek, M. Simurdova and J. Simurda, *Effect of ethanol at clinically relevant concentrations on atrial inward rectifier potassium current sensitive to acetylcholine*. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 2016. **389**(10): p. 1049-58.
46. Herve, J.C. and M. Derangeon, *Gap-junction-mediated cell-to-cell communication*. *Cell Tissue Res*, 2013. **352**(1): p. 21-31.
47. Cheung, G., O. Chever and N. Rouach, *Connexons and pannexons: newcomers in neurophysiology*. *Front Cell Neurosci*, 2014. **8**: p. 348.
48. Verheule, S. and S. Kaese, *Connexin diversity in the heart: insights from transgenic mouse models*. *Front Pharmacol*, 2013. **4**: p. 81.
49. Benes, J., Jr., G. Ammirabile, B. Sankova, M. Campione, E. Krejci, A. Kvasilova and D. Sedmera, *The role of connexin40 in developing atrial conduction*. *FEBS Lett*, 2014. **588**(8): p. 1465-9.

50. Davis, L.M., M.E. Rodefeld, K. Green, E.C. Beyer and J.E. Saffitz, *Gap junction protein phenotypes of the human heart and conduction system*. J Cardiovasc Electrophysiol, 1995. **6**(10 Pt 1): p. 813-22.
51. Saffitz, J.E., L.M. Davis, B.J. Darrow, H.L. Kanter, J.G. Laing and E.C. Beyer, *The molecular basis of anisotropy: role of gap junctions*. J Cardiovasc Electrophysiol, 1995. **6**(6): p. 498-510.
52. van Veen, A.A., H.V. van Rijen and T. Opthof, *Cardiac gap junction channels: modulation of expression and channel properties*. Cardiovasc Res, 2001. **51**(2): p. 217-29.
53. Duffy, H.S., A.G. Fort and D.C. Spray, *Cardiac connexins: genes to nexus*. Adv Cardiol, 2006. **42**: p. 1-17.
54. Jansen, J.A., T.A. van Veen, J.M. de Bakker and H.V. van Rijen, *Cardiac connexins and impulse propagation*. J Mol Cell Cardiol, 2010. **48**(1): p. 76-82.
55. Coppén, S.R., N.J. Severs and R.G. Gourdie, *Connexin45 (alpha 6) expression delineates an extended conduction system in the embryonic and mature rodent heart*. Dev Genet, 1999. **24**(1-2): p. 82-90.
56. Kreuzberg, M.M., M. Liebermann, S. Segschneider, R. Dobrowolski, H. Dobrzynski, R. Kaba, G. Rowlinson, E. Dupont, N.J. Severs and K. Willecke, *Human connexin31.9, unlike its orthologous protein connexin30.2 in the mouse, is not detectable in the human cardiac conduction system*. J Mol Cell Cardiol, 2009. **46**(4): p. 553-9.
57. Kreuzberg, M.M., J.W. Schrickel, A. Ghanem, J.S. Kim, J. Degen, U. Janssen-Bienhold, T. Lewalter, K. Tiemann and K. Willecke, *Connexin30.2 containing gap junction channels decelerate impulse propagation through the atrioventricular node*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2006. **103**(15): p. 5959-64.
58. Kreuzberg, M.M., G. Sohl, J.S. Kim, V.K. Verselis, K. Willecke and F.F. Bukauskas, *Functional properties of mouse connexin30.2 expressed in the conduction system of the heart*. Circ Res, 2005. **96**(11): p. 1169-77.
59. Bukauskas, F.F., M.M. Kreuzberg, M. Rackauskas, A. Bukauskiene, M.V. Bennett, V.K. Verselis and K. Willecke, *Properties of mouse connexin 30.2 and human connexin 31.9 hemichannels: implications for atrioventricular conduction in the heart*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2006. **103**(25): p. 9726-31.

60. Temple, I.P., S. Inada, H. Dobrzynski and M.R. Boyett, *Connexins and the atrioventricular node*. Heart Rhythm, 2013. **10**(2): p. 297-304.
61. Greener, I.D., O. Monfredi, S. Inada, N.J. Chandler, J.O. Tellez, A. Atkinson, M.A. Taube, R. Billeter, R.H. Anderson, I.R. Efimov, P. Molenaar, D.C. Sigg, V. Sharma, M.R. Boyett, and H. Dobrzynski, *Molecular architecture of the human specialised atrioventricular conduction axis*. J Mol Cell Cardiol, 2011. **50**(4): p. 642-51.
62. Kruger, O., A. Plum, J.S. Kim, E. Winterhager, S. Maxeiner, G. Hallas, S. Kirchhoff, O. Traub, W.H. Lamers and K. Willecke, *Defective vascular development in connexin 45-deficient mice*. Development, 2000. **127**(19): p. 4179-93.
63. Kumai, M., K. Nishii, K. Nakamura, N. Takeda, M. Suzuki and Y. Shibata, *Loss of connexin45 causes a cushion defect in early cardiogenesis*. Development, 2000. **127**(16): p. 3501-12.
64. Reaume, A.G., P.A. de Sousa, S. Kulkarni, B.L. Langille, D. Zhu, T.C. Davies, S.C. Juneja, G.M. Kidder and J. Rossant, *Cardiac malformation in neonatal mice lacking connexin43*. Science, 1995. **267**(5205): p. 1831-4.
65. Hagendorff, A., B. Schumacher, S. Kirchhoff, B. Luderitz and K. Willecke, *Conduction disturbances and increased atrial vulnerability in Connexin40-deficient mice analyzed by transesophageal stimulation*. Circulation, 1999. **99**(11): p. 1508-15.
66. Kirchhoff, S., J.S. Kim, A. Hagendorff, E. Thonnissen, O. Kruger, W.H. Lamers and K. Willecke, *Abnormal cardiac conduction and morphogenesis in connexin40 and connexin43 double-deficient mice*. Circ Res, 2000. **87**(5): p. 399-405.
67. van Rijen, H.V., T.A. van Veen, M.J. van Kempen, F.J. Wilms-Schopman, M. Potse, O. Krueger, K. Willecke, T. Opthof, H.J. Jongasma and J.M. de Bakker, *Impaired conduction in the bundle branches of mouse hearts lacking the gap junction protein connexin40*. Circulation, 2001. **103**(11): p. 1591-8.
68. Gu, H., F.C. Smith, S.M. Taffet and M. Delmar, *High incidence of cardiac malformations in connexin40-deficient mice*. Circ Res, 2003. **93**(3): p. 201-6.
69. Greener, I.D., T. Sasano, X. Wan, T. Igarashi, M. Strom, D.S. Rosenbaum and J.K. Donahue, *Connexin43 gene transfer reduces ventricular tachycardia susceptibility after myocardial infarction*. J Am Coll Cardiol, 2012. **60**(12): p. 1103-10.

70. Delmar, M. and N. Makita, *Cardiac connexins, mutations and arrhythmias*. *Curr Opin Cardiol*, 2012. **27**(3): p. 236-41.
71. Lerner, D.L., K.A. Yamada, R.B. Schuessler and J.E. Saffitz, *Accelerated onset and increased incidence of ventricular arrhythmias induced by ischemia in Cx43-deficient mice*. *Circulation*, 2000. **101**(5): p. 547-52.
72. Danik, S.B., F. Liu, J. Zhang, H.J. Suk, G.E. Morley, G.I. Fishman and D.E. Gutstein, *Modulation of cardiac gap junction expression and arrhythmic susceptibility*. *Circ Res*, 2004. **95**(10): p. 1035-41.
73. Verheule, S., C.A. van Batenburg, F.E. Coenjaerts, S. Kirchhoff, K. Willecke and H.J. Jongasma, *Cardiac conduction abnormalities in mice lacking the gap junction protein connexin40*. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 1999. **10**(10): p. 1380-9.
74. Kirchhoff, S., E. Nelles, A. Hagendorff, O. Kruger, O. Traub and K. Willecke, *Reduced cardiac conduction velocity and predisposition to arrhythmias in connexin40-deficient mice*. *Curr Biol*, 1998. **8**(5): p. 299-302.
75. Simon, A.M., D.A. Goodenough and D.L. Paul, *Mice lacking connexin40 have cardiac conduction abnormalities characteristic of atrioventricular block and bundle branch block*. *Curr Biol*, 1998. **8**(5): p. 295-8.
76. Nattel, S. and D. Dobrev, *Electrophysiological and molecular mechanisms of paroxysmal atrial fibrillation*. *Nat Rev Cardiol*, 2016. **13**(10): p. 575-90.
77. Wakili, R., N. Voigt, S. Kaab, D. Dobrev and S. Nattel, *Recent advances in the molecular pathophysiology of atrial fibrillation*. *J Clin Invest*, 2011. **121**(8): p. 2955-68.
78. Heijman, J., N. Voigt, S. Nattel and D. Dobrev, *Cellular and molecular electrophysiology of atrial fibrillation initiation, maintenance, and progression*. *Circ Res*, 2014. **114**(9): p. 1483-99.
79. Dobrev, D., L. Carlsson and S. Nattel, *Novel molecular targets for atrial fibrillation therapy*. *Nat Rev Drug Discov*, 2012. **11**(4): p. 275-91.
80. Kapa, S. and S.J. Asirvatham, *Atrial fibrillation: focal or reentrant or both?: a new autonomic lens to examine an old riddle*. *Circ Arrhythm Electrophysiol*, 2009. **2**(4): p. 345-8.
81. Moe, G.K., W.C. Rheinboldt and J.A. Abildskov, *A Computer Model of Atrial Fibrillation*. *Am Heart J*, 1964. **67**: p. 200-20.

82. Waks, J.W. and M.E. Josephson, *Mechanisms of Atrial Fibrillation - Reentry, Rotors and Reality*. Arrhythm Electrophysiol Rev, 2014. **3**(2): p. 90-100.
83. Moe, G.K. and J.A. Abildskov, *Atrial fibrillation as a self-sustaining arrhythmia independent of focal discharge*. Am Heart J, 1959. **58**(1): p. 59-70.
84. Jais, P., M. Haissaguerre, D.C. Shah, S. Chouairi, L. Gencel, M. Hocini and J. Clementy, *A focal source of atrial fibrillation treated by discrete radiofrequency ablation*. Circulation, 1997. **95**(3): p. 572-6.
85. Haissaguerre, M., P. Jais, D.C. Shah, A. Takahashi, M. Hocini, G. Quiniou, S. Garrigue, A. Le Mouroux, P. Le Metayer and J. Clementy, *Spontaneous initiation of atrial fibrillation by ectopic beats originating in the pulmonary veins*. N Engl J Med, 1998. **339**(10): p. 659-66.
86. Pappone, C., S. Rosanio, G. Oreto, M. Tocchi, F. Gugliotta, G. Vicedomini, A. Salvati, C. Dicandia, P. Mazzone, V. Santinelli, S. Gulletta, and S. Chierchia, *Circumferential radiofrequency ablation of pulmonary vein ostia: A new anatomic approach for curing atrial fibrillation*. Circulation, 2000. **102**(21): p. 2619-28.
87. Scherlag, B.J., Y.L. Hou, J. Lin, Z. Lu, S. Zacharias, T. Dasari, G. Niu, M. Ghias, E. Patterson, W.M. Jackman, R. Lazzara, and S.S. Po, *An acute model for atrial fibrillation arising from a peripheral atrial site: evidence for primary and secondary triggers*. J Cardiovasc Electrophysiol, 2008. **19**(5): p. 519-27.
88. Po, S.S., B.J. Scherlag, W.S. Yamanashi, J. Edwards, J. Zhou, R. Wu, N. Geng, R. Lazzara and W.M. Jackman, *Experimental model for paroxysmal atrial fibrillation arising at the pulmonary vein-atrial junctions*. Heart Rhythm, 2006. **3**(2): p. 201-8.
89. Blom, N.A., A.C. Gittenberger-de Groot, M.C. DeRuiter, R.E. Poelmann, M.M. Mentink and J. Ottenkamp, *Development of the cardiac conduction tissue in human embryos using HNK-1 antigen expression: possible relevance for understanding of abnormal atrial automaticity*. Circulation, 1999. **99**(6): p. 800-6.
90. Mahida, S., F. Sacher, N. Derval, B. Berte, S. Yamashita, D. Hooks, A. Denis, S. Amraoui, M. Hocini, M. Haissaguerre, and P. Jais, *Science Linking Pulmonary Veins and Atrial Fibrillation*. Arrhythm Electrophysiol Rev, 2015. **4**(1): p. 40-3.
91. Nguyen, B.L., M.C. Fishbein, L.S. Chen, P.S. Chen and S. Masroor, *Histopathological substrate for chronic atrial fibrillation in humans*. Heart Rhythm, 2009. **6**(4): p. 454-60.

92. Morel, E., D. Meyronet, F. Thivolet-Bejuy and P. Chevalier, *Identification and distribution of interstitial Cajal cells in human pulmonary veins*. Heart Rhythm, 2008. **5**(7): p. 1063-7.
93. Nattel, S., B. Burstein and D. Dobrev, *Atrial remodeling and atrial fibrillation: mechanisms and implications*. Circ Arrhythm Electrophysiol, 2008. **1**(1): p. 62-73.
94. Niu, G., B.J. Scherlag, Z. Lu, M. Ghias, Y. Zhang, E. Patterson, T.W. Dasari, S. Zacharias, R. Lazzara, W.M. Jackman, and S.S. Po, *An acute experimental model demonstrating 2 different forms of sustained atrial tachyarrhythmias*. Circ Arrhythm Electrophysiol, 2009. **2**(4): p. 384-92.
95. Wijffels, M.C., C.J. Kirchhof, R. Dorland and M.A. Allessie, *Atrial fibrillation begets atrial fibrillation. A study in awake chronically instrumented goats*. Circulation, 1995. **92**(7): p. 1954-68.
96. Chou, C.C., S. Zhou, Y. Miyauchi, H.N. Pak, Y. Okuyama, M.C. Fishbein, H.S. Karagueuzian and P.S. Chen, *Effects of procainamide on electrical activity in thoracic veins and atria in canine model of sustained atrial fibrillation*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2004. **286**(5): p. H1936-45.
97. Holmes, A.P., T.Y. Yu, S. Tull, F. Syeda, S.M. Kuhlmann, S.M. O'Brien, P. Patel, K.L. Brain, D. Pavlovic, N.A. Brown, L. Fabritz, and P. Kirchhof, *A Regional Reduction in Ito and IKACH in the Murine Posterior Left Atrial Myocardium Is Associated with Action Potential Prolongation and Increased Ectopic Activity*. PLoS One, 2016. **11**(5): p. e0154077.
98. Sanders, P., O. Berenfeld, M. Hocini, P. Jais, R. Vaidyanathan, L.F. Hsu, S. Garrigue, Y. Takahashi, M. Rotter, F. Sacher, C. Scavee, R. Ploutz-Snyder, J. Jalife, and M. Haissaguerre, *Spectral analysis identifies sites of high-frequency activity maintaining atrial fibrillation in humans*. Circulation, 2005. **112**(6): p. 789-97.
99. Jalife, J., O. Berenfeld and M. Mansour, *Mother rotors and fibrillatory conduction: a mechanism of atrial fibrillation*. Cardiovasc Res, 2002. **54**(2): p. 204-16.
100. Ridler, M.E., M. Lee, D. McQueen, C. Peskin and E. Vigmond, *Arrhythmogenic consequences of action potential duration gradients in the atria*. Can J Cardiol, 2011. **27**(1): p. 112-9.

101. Iwasaki, Y.K., K. Nishida, T. Kato and S. Nattel, *Atrial fibrillation pathophysiology: implications for management*. Circulation, 2011. **124**(20): p. 2264-74.
102. Wan, E., J. Abrams, R.L. Weinberg, A.N. Katchman, J. Bayne, S.I. Zakharov, L. Yang, J.P. Morrow, H. Garan and S.O. Marx, *Aberrant sodium influx causes cardiomyopathy and atrial fibrillation in mice*. J Clin Invest, 2016. **126**(1): p. 112-22.
103. Haissaguerre, M., D.C. Shah, P. Jais, M. Hocini, T. Yamane, I. Deisenhofer, S. Garrigue and J. Clementy, *Mapping-guided ablation of pulmonary veins to cure atrial fibrillation*. Am J Cardiol, 2000. **86**(9A): p. 9K-19K.
104. Gaspo, R., R.F. Bosch, M. Talajic and S. Nattel, *Functional mechanisms underlying tachycardia-induced sustained atrial fibrillation in a chronic dog model*. Circulation, 1997. **96**(11): p. 4027-35.
105. Nattel, S., A. Maguy, S. Le Bouter and Y.H. Yeh, *Arrhythmogenic ion-channel remodeling in the heart: heart failure, myocardial infarction, and atrial fibrillation*. Physiol Rev, 2007. **87**(2): p. 425-56.
106. Fareh, S., C. Villemaire and S. Nattel, *Importance of refractoriness heterogeneity in the enhanced vulnerability to atrial fibrillation induction caused by tachycardia-induced atrial electrical remodeling*. Circulation, 1998. **98**(20): p. 2202-9.
107. Voigt, N. and D. Dobrev, *Atrial-Selective Potassium Channel Blockers*. Card Electrophysiol Clin, 2016. **8**(2): p. 411-21.
108. Heijman, J., N. Voigt and D. Dobrev, *New directions in antiarrhythmic drug therapy for atrial fibrillation*. Future Cardiol, 2013. **9**(1): p. 71-88.
109. Woods, C.E. and J. Olgin, *Atrial fibrillation therapy now and in the future: drugs, biologicals, and ablation*. Circ Res, 2014. **114**(9): p. 1532-46.
110. Courtemanche, M., R.J. Ramirez and S. Nattel, *Ionic targets for drug therapy and atrial fibrillation-induced electrical remodeling: insights from a mathematical model*. Cardiovasc Res, 1999. **42**(2): p. 477-89.
111. Van Wagoner, D.R., A.L. Pond, P.M. McCarthy, J.S. Trimmer and J.M. Nerbonne, *Outward K⁺ current densities and Kv1.5 expression are reduced in chronic human atrial fibrillation*. Circ Res, 1997. **80**(6): p. 772-81.
112. Christophersen, I.E., M.S. Olesen, B. Liang, M.N. Andersen, A.P. Larsen, J.B. Nielsen, S. Haunso, S.P. Olesen, A. Tveit, J.H. Svendsen, and N. Schmitt, *Genetic variation in*

- KCNA5: impact on the atrial-specific potassium current I_{Kur} in patients with lone atrial fibrillation.* Eur Heart J, 2013. **34**(20): p. 1517-25.
113. Hayashi, K., T. Konno, H. Tada, S. Tani, L. Liu, N. Fujino, A. Nohara, A. Hodatsu, T. Tsuda, Y. Tanaka, M.A. Kawashiri, H. Ino, N. Makita, and M. Yamagishi, *Functional Characterization of Rare Variants Implicated in Susceptibility to Lone Atrial Fibrillation.* Circ Arrhythm Electrophysiol, 2015. **8**(5): p. 1095-104.
114. Yang, T., P. Yang, D.M. Roden and D. Darbar, *Novel KCNA5 mutation implicates tyrosine kinase signaling in human atrial fibrillation.* Heart Rhythm, 2010. **7**(9): p. 1246-52.
115. Olson, T.M., A.E. Alekseev, X.K. Liu, S. Park, L.V. Zingman, M. Bienengraeber, S. Sattiraju, J.D. Ballew, A. Jahangir and A. Terzic, *Kv1.5 channelopathy due to KCNA5 loss-of-function mutation causes human atrial fibrillation.* Hum Mol Genet, 2006. **15**(14): p. 2185-91.
116. Schmitt, N., M. Grunnet and S.P. Olesen, *Cardiac potassium channel subtypes: new roles in repolarization and arrhythmia.* Physiol Rev, 2014. **94**(2): p. 609-53.
117. Schotten, U., S. Verheule, P. Kirchhof and A. Goette, *Pathophysiological mechanisms of atrial fibrillation: a translational appraisal.* Physiol Rev, 2011. **91**(1): p. 265-325.
118. Christophersen, I.E. and P.T. Ellinor, *Genetics of atrial fibrillation: from families to genomes.* J Hum Genet, 2016. **61**(1): p. 61-70.
119. Hong, K., P. Bjerregaard, I. Gussak and R. Brugada, *Short QT syndrome and atrial fibrillation caused by mutation in KCNH2.* J Cardiovasc Electrophysiol, 2005. **16**(4): p. 394-6.
120. Sinner, M.F., A. Pfeufer, M. Akyol, B.M. Beckmann, M. Hinterseer, A. Wacker, S. Perz, W. Sauter, T. Illig, M. Nabauer, C. Schmitt, H.E. Wichmann, A. Schomig, G. Steinbeck, T. Meitinger, and S. Kaab, *The non-synonymous coding IKr-channel variant KCNH2-K897T is associated with atrial fibrillation: results from a systematic candidate gene-based analysis of KCNH2 (HERG).* Eur Heart J, 2008. **29**(7): p. 907-14.
121. Chen, Y.H., S.J. Xu, S. Bendahhou, X.L. Wang, Y. Wang, W.Y. Xu, H.W. Jin, H. Sun, X.Y. Su, Q.N. Zhuang, Y.Q. Yang, Y.B. Li, Y. Liu, H.J. Xu, X.F. Li, N. Ma, C.P. Mou, Z. Chen, J. Barhanin, and W. Huang, *KCNQ1 gain-of-function mutation in familial atrial fibrillation.* Science, 2003. **299**(5604): p. 251-4.

122. Hong, K., D.R. Piper, A. Diaz-Valdecantos, J. Brugada, A. Oliva, E. Burashnikov, J. Santos-de-Soto, J. Grueso-Montero, E. Diaz-Enfante, P. Brugada, F. Sachse, M.C. Sanguinetti, and R. Brugada, *De novo KCNQ1 mutation responsible for atrial fibrillation and short QT syndrome in utero*. Cardiovasc Res, 2005. **68**(3): p. 433-40.
123. Hasegawa, K., S. Ohno, T. Ashihara, H. Itoh, W.G. Ding, F. Toyoda, T. Makiyama, H. Aoki, Y. Nakamura, B.P. Delisle, H. Matsuura, and M. Horie, *A novel KCNQ1 missense mutation identified in a patient with juvenile-onset atrial fibrillation causes constitutively open IKs channels*. Heart Rhythm, 2014. **11**(1): p. 67-75.
124. Nattel, S., *New ideas about atrial fibrillation 50 years on*. Nature, 2002. **415**(6868): p. 219-26.
125. Yue, L., J. Feng, R. Gaspo, G.R. Li, Z. Wang and S. Nattel, *Ionic remodeling underlying action potential changes in a canine model of atrial fibrillation*. Circ Res, 1997. **81**(4): p. 512-25.
126. Bosch, R.F., X. Zeng, J.B. Grammer, K. Popovic, C. Mewis and V. Kuhlkamp, *Ionic mechanisms of electrical remodeling in human atrial fibrillation*. Cardiovasc Res, 1999. **44**(1): p. 121-31.
127. Dobrev, D., E. Graf, E. Wettwer, H.M. Himmel, O. Hala, C. Doerfel, T. Christ, S. Schuler and U. Ravens, *Molecular basis of downregulation of G-protein-coupled inward rectifying K(+) current (I(K,ACh) in chronic human atrial fibrillation: decrease in GIRK4 mRNA correlates with reduced I(K,ACh) and muscarinic receptor-mediated shortening of action potentials*. Circulation, 2001. **104**(21): p. 2551-7.
128. Dobrev, D., A. Friedrich, N. Voigt, N. Jost, E. Wettwer, T. Christ, M. Knaut and U. Ravens, *The G protein-gated potassium current I(K,ACh) is constitutively active in patients with chronic atrial fibrillation*. Circulation, 2005. **112**(24): p. 3697-706.
129. Hara, M., A. Shvilkin, M.R. Rosen, P. Danilo, Jr. and P.A. Boyden, *Steady-state and nonsteady-state action potentials in fibrillating canine atrium: abnormal rate adaptation and its possible mechanisms*. Cardiovasc Res, 1999. **42**(2): p. 455-69.
130. Christ, T., E. Wettwer, N. Voigt, O. Hala, S. Radicke, K. Matschke, A. Varro, D. Dobrev and U. Ravens, *Pathology-specific effects of the IKur/Ito/IK,ACh blocker AVE0118 on ion channels in human chronic atrial fibrillation*. Br J Pharmacol, 2008. **154**(8): p. 1619-30.

131. Wettwer, E., O. Hala, T. Christ, J.F. Heubach, D. Dobrev, M. Knaut, A. Varro and U. Ravens, *Role of IKur in controlling action potential shape and contractility in the human atrium: influence of chronic atrial fibrillation*. *Circulation*, 2004. **110**(16): p. 2299-306.
132. Gaborit, N., M. Steenman, G. Lamirault, N. Le Meur, S. Le Bouter, G. Lande, J. Leger, F. Charpentier, T. Christ, D. Dobrev, D. Escande, S. Nattel, and S. Demolombe, *Human atrial ion channel and transporter subunit gene-expression remodeling associated with valvular heart disease and atrial fibrillation*. *Circulation*, 2005. **112**(4): p. 471-81.
133. Voigt, N., A. Trausch, M. Knaut, K. Matschke, A. Varro, D.R. Van Wagoner, S. Nattel, U. Ravens and D. Dobrev, *Left-to-right atrial inward rectifier potassium current gradients in patients with paroxysmal versus chronic atrial fibrillation*. *Circ Arrhythm Electrophysiol*, 2010. **3**(5): p. 472-80.
134. Kneller, J., R. Zou, E.J. Vigmond, Z. Wang, L.J. Leon and S. Nattel, *Cholinergic atrial fibrillation in a computer model of a two-dimensional sheet of canine atrial cells with realistic ionic properties*. *Circ Res*, 2002. **90**(9): p. E73-87.
135. Voigt, N., A. Maguy, Y.H. Yeh, X. Qi, U. Ravens, D. Dobrev and S. Nattel, *Changes in I_K, ACh single-channel activity with atrial tachycardia remodelling in canine atrial cardiomyocytes*. *Cardiovasc Res*, 2008. **77**(1): p. 35-43.
136. Pandit, S.V., O. Berenfeld, J.M. Anumonwo, R.M. Zaritski, J. Kneller, S. Nattel and J. Jalife, *Ionic determinants of functional reentry in a 2-D model of human atrial cells during simulated chronic atrial fibrillation*. *Biophys J*, 2005. **88**(6): p. 3806-21.
137. Ausma, J., G.D. Dispensyn, H. Duimel, F. Thone, L. Ver Donck, M.A. Allesie and M. Borgers, *Changes in ultrastructural calcium distribution in goat atria during atrial fibrillation*. *J Mol Cell Cardiol*, 2000. **32**(3): p. 355-64.
138. Schotten, U., M. Duytschaever, J. Ausma, S. Eijsbouts, H.R. Neuberger and M. Allesie, *Electrical and contractile remodeling during the first days of atrial fibrillation go hand in hand*. *Circulation*, 2003. **107**(10): p. 1433-9.
139. Courtemanche, M., R.J. Ramirez and S. Nattel, *Ionic mechanisms underlying human atrial action potential properties: insights from a mathematical model*. *Am J Physiol*, 1998. **275**(1 Pt 2): p. H301-21.
140. Voigt, N., A. Friedrich, M. Bock, E. Wettwer, T. Christ, M. Knaut, R.H. Strasser, U. Ravens and D. Dobrev, *Differential phosphorylation-dependent regulation of*

- constitutively active and muscarinic receptor-activated IK,ACh channels in patients with chronic atrial fibrillation. Cardiovasc Res, 2007. 74(3): p. 426-37.*
141. Christ, T., P. Boknik, S. Wohrl, E. Wettwer, E.M. Graf, R.F. Bosch, M. Knaut, W. Schmitz, U. Ravens and D. Dobrev, *L-type Ca²⁺ current downregulation in chronic human atrial fibrillation is associated with increased activity of protein phosphatases. Circulation, 2004. 110(17): p. 2651-7.*
 142. Brundel, B.J., R.H. Henning, H.H. Kampinga, I.C. Van Gelder and H.J. Crijns, *Molecular mechanisms of remodeling in human atrial fibrillation. Cardiovasc Res, 2002. 54(2): p. 315-24.*
 143. Toischer, K., N. Hartmann, S. Wagner, T.H. Fischer, J. Herting, B.C. Danner, C.M. Sag, T.J. Hund, P.J. Mohler, L. Belardinelli, G. Hasenfuss, L.S. Maier, and S. Sossalla, *Role of late sodium current as a potential arrhythmogenic mechanism in the progression of pressure-induced heart disease. J Mol Cell Cardiol, 2013. 61: p. 111-22.*
 144. Ufret-Vincenty, C.A., D.J. Baro, W.J. Lederer, H.A. Rockman, L.E. Quinones and L.F. Santana, *Role of sodium channel deglycosylation in the genesis of cardiac arrhythmias in heart failure. J Biol Chem, 2001. 276(30): p. 28197-203.*
 145. Undrovinas, A.I., V.A. Maltsev and H.N. Sabbah, *Repolarization abnormalities in cardiomyocytes of dogs with chronic heart failure: role of sustained inward current. Cell Mol Life Sci, 1999. 55(3): p. 494-505.*
 146. Poulet, C., E. Wettwer, M. Grunnet, T. Jespersen, L. Fabritz, K. Matschke, M. Knaut and U. Ravens, *Late Sodium Current in Human Atrial Cardiomyocytes from Patients in Sinus Rhythm and Atrial Fibrillation. PLoS One, 2015. 10(6): p. e0131432.*
 147. Darbar, D., P.J. Kannankeril, B.S. Donahue, G. Kucera, T. Stubblefield, J.L. Haines, A.L. George, Jr. and D.M. Roden, *Cardiac sodium channel (SCN5A) variants associated with atrial fibrillation. Circulation, 2008. 117(15): p. 1927-35.*
 148. Johnson, J.N., D.J. Tester, J. Perry, B.A. Salisbury, C.R. Reed and M.J. Ackerman, *Prevalence of early-onset atrial fibrillation in congenital long QT syndrome. Heart Rhythm, 2008. 5(5): p. 704-9.*
 149. Sossalla, S., B. Kallmeyer, S. Wagner, M. Mazur, U. Maurer, K. Toischer, J.D. Schmitto, R. Seipelt, F.A. Schondube, G. Hasenfuss, L. Belardinelli, and L.S. Maier, *Altered*

- Na(+)* currents in atrial fibrillation effects of ranolazine on arrhythmias and contractility in human atrial myocardium. *J Am Coll Cardiol*, 2010. **55**(21): p. 2330-42.
150. Olesen, M.S., L. Yuan, B. Liang, A.G. Holst, N. Nielsen, J.B. Nielsen, P.L. Hedley, M. Christiansen, S.P. Olesen, S. Haunso, N. Schmitt, T. Jespersen, and J.H. Svendsen, *High prevalence of long QT syndrome-associated SCN5A variants in patients with early-onset lone atrial fibrillation*. *Circ Cardiovasc Genet*, 2012. **5**(4): p. 450-9.
151. Olson, T.M., V.V. Michels, J.D. Ballew, S.P. Reyna, M.L. Karst, K.J. Herron, S.C. Horton, R.J. Rodeheffer and J.L. Anderson, *Sodium channel mutations and susceptibility to heart failure and atrial fibrillation*. *JAMA*, 2005. **293**(4): p. 447-54.
152. Gaspo, R., R.F. Bosch, E. Bou-Abboud and S. Nattel, *Tachycardia-induced changes in Na⁺ current in a chronic dog model of atrial fibrillation*. *Circ Res*, 1997. **81**(6): p. 1045-52.
153. Mann, D.L. and D. Burkhoff, *Myocardial expression levels of micro-ribonucleic acids in patients with left ventricular assist devices signature of myocardial recovery, signature of reverse remodeling, or signature with no name?* *J Am Coll Cardiol*, 2011. **58**(22): p. 2279-81.
154. Molkenin, J.D., *Dichotomy of Ca²⁺ in the heart: contraction versus intracellular signaling*. *J Clin Invest*, 2006. **116**(3): p. 623-6.
155. Hulot, J.S., J. Fauconnier, D. Ramanujam, A. Chaanine, F. Aubart, Y. Sassi, S. Merkle, O. Cazorla, A. Ouille, M. Dupuis, L. Hadri, D. Jeong, S. Muhlstedt, J. Schmitt, A. Braun, L. Benard, Y. Saliba, B. Laggerbauer, B. Nieswandt, A. Lacampagne, R.J. Hajjar, A.M. Lompre, and S. Engelhardt, *Critical role for stromal interaction molecule 1 in cardiac hypertrophy*. *Circulation*, 2011. **124**(7): p. 796-805.
156. Ramirez, R.J., S. Nattel and M. Courtemanche, *Mathematical analysis of canine atrial action potentials: rate, regional factors, and electrical remodeling*. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2000. **279**(4): p. H1767-85.
157. Dhein, S., A. Hagen, J. Jozwiak, A. Dietze, J. Garbade, M. Barten, M. Kostelka and F.W. Mohr, *Improving cardiac gap junction communication as a new antiarrhythmic mechanism: the action of antiarrhythmic peptides*. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2010. **381**(3): p. 221-34.

158. Chaldoupi, S.M., P. Loh, R.N. Hauer, J.M. de Bakker and H.V. van Rijen, *The role of connexin40 in atrial fibrillation*. Cardiovasc Res, 2009. **84**(1): p. 15-23.
159. Hauer, R.N., W.A. Groenewegen, M. Firouzi, H. Ramanna and H.J. Jongsma, *Cx40 polymorphism in human atrial fibrillation*. Adv Cardiol, 2006. **42**: p. 284-91.
160. Chiang, C.E., L. Naditch-Brule, J. Murin, M. Goethals, H. Inoue, J. O'Neill, J. Silva-Cardoso, O. Zharinov, H. Gamra, S. Alam, P. Ponikowski, T. Lewalter, M. Rosenqvist, and P.G. Steg, *Distribution and risk profile of paroxysmal, persistent, and permanent atrial fibrillation in routine clinical practice: insight from the real-life global survey evaluating patients with atrial fibrillation international registry*. Circ Arrhythm Electrophysiol, 2012. **5**(4): p. 632-9.
161. van Deursen, V.M., R. Urso, C. Laroche, K. Damman, U. Dahlstrom, L. Tavazzi, A.P. Maggioni and A.A. Voors, *Co-morbidities in patients with heart failure: an analysis of the European Heart Failure Pilot Survey*. Eur J Heart Fail, 2014. **16**(1): p. 103-11.
162. Hsieh, M.H., Y.J. Lin, H.H. Wang, L.W. Lo, S.L. Chang, Y.L. Yan, T.Y. Chou, S.A. Chen and H.I. Yeh, *Functional characterization of atrial electrograms in a pacing-induced heart failure model of atrial fibrillation: importance of regional atrial connexin40 remodeling*. J Cardiovasc Electrophysiol, 2013. **24**(5): p. 573-82.
163. Dupont, E., T. Matsushita, R.A. Kaba, C. Vozzi, S.R. Coppen, N. Khan, R. Kaprielian, M.H. Yacoub and N.J. Severs, *Altered connexin expression in human congestive heart failure*. J Mol Cell Cardiol, 2001. **33**(2): p. 359-71.
164. Severs, N.J., E. Dupont, S.R. Coppen, D. Halliday, E. Inett, D. Baylis and S. Rothery, *Remodelling of gap junctions and connexin expression in heart disease*. Biochim Biophys Acta, 2004. **1662**(1-2): p. 138-48.
165. Kostin, S., G. Klein, Z. Szalay, S. Hein, E.P. Bauer and J. Schaper, *Structural correlate of atrial fibrillation in human patients*. Cardiovasc Res, 2002. **54**(2): p. 361-79.
166. Dupont, E., Y. Ko, S. Rothery, S.R. Coppen, M. Baghai, M. Haw and N.J. Severs, *The gap-junctional protein connexin40 is elevated in patients susceptible to postoperative atrial fibrillation*. Circulation, 2001. **103**(6): p. 842-9.
167. van der Velden, H.M., M.J. van Kempen, M.C. Wijffels, M. van Zijverden, W.A. Groenewegen, M.A. Allessie and H.J. Jongsma, *Altered pattern of connexin40*

- distribution in persistent atrial fibrillation in the goat.* J Cardiovasc Electrophysiol, 1998. **9**(6): p. 596-607.
168. Wit, A.L. and N.S. Peters, *The role of gap junctions in the arrhythmias of ischemia and infarction.* Heart Rhythm, 2012. **9**(2): p. 308-11.
169. Morley, G.E., D. Vaidya, F.H. Samie, C. Lo, M. Delmar and J. Jalife, *Characterization of conduction in the ventricles of normal and heterozygous Cx43 knockout mice using optical mapping.* J Cardiovasc Electrophysiol, 1999. **10**(10): p. 1361-75.
170. Olgin, J.E. and S. Verheule, *Transgenic and knockout mouse models of atrial arrhythmias.* Cardiovasc Res, 2002. **54**(2): p. 280-6.
171. Burstein, B., P. Comtois, G. Michael, K. Nishida, L. Villeneuve, Y.H. Yeh and S. Nattel, *Changes in connexin expression and the atrial fibrillation substrate in congestive heart failure.* Circ Res, 2009. **105**(12): p. 1213-22.
172. Akar, F.G., R.D. Nass, S. Hahn, E. Cingolani, M. Shah, G.G. Hesketh, D. DiSilvestre, R.S. Tunin, D.A. Kass and G.F. Tomaselli, *Dynamic changes in conduction velocity and gap junction properties during development of pacing-induced heart failure.* Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2007. **293**(2): p. H1223-30.
173. Polontchouk, L., J.A. Haefliger, B. Ebel, T. Schaefer, D. Stuhlmann, U. Mehlhorn, F. Kuhn-Regnier, E.R. De Vivie and S. Dhein, *Effects of chronic atrial fibrillation on gap junction distribution in human and rat atria.* J Am Coll Cardiol, 2001. **38**(3): p. 883-91.
174. Nao, T., T. Ohkusa, Y. Hisamatsu, N. Inoue, T. Matsumoto, J. Yamada, A. Shimizu, Y. Yoshiga, T. Yamagata, S. Kobayashi, M. Yano, K. Hamano, and M. Matsuzaki, *Comparison of expression of connexin in right atrial myocardium in patients with chronic atrial fibrillation versus those in sinus rhythm.* Am J Cardiol, 2003. **91**(6): p. 678-83.
175. van der Velden, H.M. and H.J. Jongsma, *Cardiac gap junctions and connexins: their role in atrial fibrillation and potential as therapeutic targets.* Cardiovasc Res, 2002. **54**(2): p. 270-9.
176. van der Velden, H.M., J. Ausma, M.B. Rook, A.J. Hellemons, T.A. van Veen, M.A. Allesie and H.J. Jongsma, *Gap junctional remodeling in relation to stabilization of atrial fibrillation in the goat.* Cardiovasc Res, 2000. **46**(3): p. 476-86.

177. Kato, T., Y.K. Iwasaki and S. Nattel, *Connexins and atrial fibrillation: filling in the gaps*. *Circulation*, 2012. **125**(2): p. 203-6.
178. McDowell, K.S., F. Vadakkumpadan, R. Blake, J. Blauer, G. Plank, R.S. Macleod and N.A. Trayanova, *Mechanistic inquiry into the role of tissue remodeling in fibrotic lesions in human atrial fibrillation*. *Biophys J*, 2013. **104**(12): p. 2764-73.
179. Brundel, B.J., I.C. Van Gelder, A.E. Tuinenburg, M. Wietes, D.J. Van Veldhuisen, W.H. Van Gilst, H.J. Crijns and R.H. Henning, *Endothelin system in human persistent and paroxysmal atrial fibrillation*. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 2001. **12**(7): p. 737-42.
180. Ehrlich, J.R., S.H. Hohnloser and S. Nattel, *Role of angiotensin system and effects of its inhibition in atrial fibrillation: clinical and experimental evidence*. *Eur Heart J*, 2006. **27**(5): p. 512-8.
181. Burstein, B., E. Libby, A. Calderone and S. Nattel, *Differential behaviors of atrial versus ventricular fibroblasts: a potential role for platelet-derived growth factor in atrial-ventricular remodeling differences*. *Circulation*, 2008. **117**(13): p. 1630-41.
182. Verheule, S., T. Sato, T.t. Everett, S.K. Engle, D. Otten, M. Rubart-von der Lohe, H.O. Nakajima, H. Nakajima, L.J. Field and J.E. Olgin, *Increased vulnerability to atrial fibrillation in transgenic mice with selective atrial fibrosis caused by overexpression of TGF-beta1*. *Circ Res*, 2004. **94**(11): p. 1458-65.
183. Healey, J.S., A. Baranchuk, E. Crystal, C.A. Morillo, M. Garfinkle, S. Yusuf and S.J. Connolly, *Prevention of atrial fibrillation with angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin receptor blockers: a meta-analysis*. *J Am Coll Cardiol*, 2005. **45**(11): p. 1832-9.
184. Fragakis, N., G. Vicedomini and C. Pappone, *Endurance Sport Activity and Risk of Atrial Fibrillation - Epidemiology, Proposed Mechanisms and Management*. *Arrhythm Electrophysiol Rev*, 2014. **3**(1): p. 15-9.
185. Baldesberger, S., U. Bauersfeld, R. Candinas, B. Seifert, M. Zuber, M. Ritter, R. Jenni, E. Oechslin, P. Luthi, C. Scharf, B. Marti, and C.H. Attenhofer Jost, *Sinus node disease and arrhythmias in the long-term follow-up of former professional cyclists*. *Eur Heart J*, 2008. **29**(1): p. 71-8.

186. Benito, B., G. Gay-Jordi, A. Serrano-Mollar, E. Guasch, Y. Shi, J.C. Tardif, J. Brugada, S. Nattel and L. Mont, *Cardiac arrhythmogenic remodeling in a rat model of long-term intensive exercise training*. *Circulation*, 2011. **123**(1): p. 13-22.
187. Pelliccia, A., N. Kinoshita, C. Pisicchio, F. Quattrini, F.M. Dipaolo, R. Ciardo, B. Di Giacinto, E. Guerra, E. De Blasiis, M. Casasco, F. Culasso, and B.J. Maron, *Long-term clinical consequences of intense, uninterrupted endurance training in olympic athletes*. *J Am Coll Cardiol*, 2010. **55**(15): p. 1619-25.
188. Mont, L., R. Elosua and J. Brugada, *Endurance sport practice as a risk factor for atrial fibrillation and atrial flutter*. *Europace*, 2009. **11**(1): p. 11-7.
189. Wilhelm, M., *Atrial fibrillation in endurance athletes*. *Eur J Prev Cardiol*, 2014. **21**(8): p. 1040-8.
190. Guasch, E., B. Benito, X. Qi, C. Cifelli, P. Naud, Y. Shi, A. Mighiu, J.C. Tardif, A. Tadevosyan, Y. Chen, M.A. Gillis, Y.K. Iwasaki, D. Dobrev, L. Mont, S. Heximer, and S. Nattel, *Atrial fibrillation promotion by endurance exercise: demonstration and mechanistic exploration in an animal model*. *J Am Coll Cardiol*, 2013. **62**(1): p. 68-77.
191. Calvo, N., J. Brugada, M. Sitges and L. Mont, *Atrial fibrillation and atrial flutter in athletes*. *Br J Sports Med*, 2012. **46 Suppl 1**: p. i37-43.
192. Bettoni, M. and M. Zimmermann, *Autonomic tone variations before the onset of paroxysmal atrial fibrillation*. *Circulation*, 2002. **105**(23): p. 2753-9.
193. Lomax, A.E., C.S. Kondo and W.R. Giles, *Comparison of time- and voltage-dependent K⁺ currents in myocytes from left and right atria of adult mice*. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2003. **285**(5): p. H1837-48.
194. Kover, P., K. Wickman, C.T. Maguire, W. Pu, J. Gehrman, C.I. Berul and D.E. Clapham, *Evaluation of the role of I(KACh) in atrial fibrillation using a mouse knockout model*. *J Am Coll Cardiol*, 2001. **37**(8): p. 2136-43.
195. Grundvold, I., P.T. Skretteberg, K. Liestol, G. Erikssen, K. Engeseth, K. Gjesdal, S.E. Kjeldsen, H. Arnesen, J. Erikssen and J. Bodegard, *Low heart rates predict incident atrial fibrillation in healthy middle-aged men*. *Circ Arrhythm Electrophysiol*, 2013. **6**(4): p. 726-31.
196. Coumel, P., *Heart rate variability and the onset of tachyarrhythmias*. *G Ital Cardiol*, 1992. **22**(5): p. 647-54.

197. Coumel, P., *Paroxysmal atrial fibrillation: a disorder of autonomic tone?* Eur Heart J, 1994. **15 Suppl A**: p. 9-16.
198. Mohanty, S., P. Mohanty, M. Tamaki, V. Natale, C. Gianni, C. Trivedi, Y. Gokoglan, D.I.B. L and A. Natale, *Differential Association of Exercise Intensity With Risk of Atrial Fibrillation in Men and Women: Evidence from a Meta-Analysis.* J Cardiovasc Electrophysiol, 2016. **27**(9): p. 1021-9.
199. Everett, B.M., D. Conen, J.E. Buring, M.V. Moorthy, I.M. Lee and C.M. Albert, *Physical activity and the risk of incident atrial fibrillation in women.* Circ Cardiovasc Qual Outcomes, 2011. **4**(3): p. 321-7.
200. Andersen, K., B. Farahmand, A. Ahlbom, C. Held, S. Ljunghall, K. Michaelsson and J. Sundstrom, *Risk of arrhythmias in 52 755 long-distance cross-country skiers: a cohort study.* Eur Heart J, 2013. **34**(47): p. 3624-31.
201. Mosen, H. and K. Steding-Ehrenborg, *Atrial remodelling is less pronounced in female endurance-trained athletes compared with that in male athletes.* Scand Cardiovasc J, 2014. **48**(1): p. 20-6.
202. van der Hooft, C.S., J. Heeringa, G. van Herpen, J.A. Kors, J.H. Kingma and B.H. Stricker, *Drug-induced atrial fibrillation.* J Am Coll Cardiol, 2004. **44**(11): p. 2117-24.
203. Sullivan, M.L., C.M. Martinez and E.J. Gallagher, *Atrial fibrillation and anabolic steroids.* J Emerg Med, 1999. **17**(5): p. 851-7.
204. Tiscornia, G.C., R. Moretta, M.A. Argenziano, C.E. Amorena and E.A. Garcia Gras, *Inhibition of connexin 43 in cardiac muscle during intense physical exercise.* Scand J Med Sci Sports, 2014. **24**(2): p. 336-44.
205. Sanchis-Gomar, F., K. Malkani and C. Perez-Quilis, *Exercise training intensity and connexin 43 expression in hypertrophic cardiomyopathy.* J Mol Cell Cardiol, 2017. **109**: p. 60.
206. Eckstein, J., S. Verheule, N.M. de Groot, M. Allesie and U. Schotten, *Mechanisms of perpetuation of atrial fibrillation in chronically dilated atria.* Prog Biophys Mol Biol, 2008. **97**(2-3): p. 435-51.
207. Yue, L., J. Xie and S. Nattel, *Molecular determinants of cardiac fibroblast electrical function and therapeutic implications for atrial fibrillation.* Cardiovasc Res, 2011. **89**(4): p. 744-53.

208. Miragoli, M., N. Salvarani and S. Rohr, *Myofibroblasts induce ectopic activity in cardiac tissue*. *Circ Res*, 2007. **101**(8): p. 755-8.
209. Zlochiver, S., V. Munoz, K.L. Vikstrom, S.M. Taffet, O. Berenfeld and J. Jalife, *Electrotonic myofibroblast-to-myocyte coupling increases propensity to reentrant arrhythmias in two-dimensional cardiac monolayers*. *Biophys J*, 2008. **95**(9): p. 4469-80.
210. Burstein, B. and S. Nattel, *Atrial fibrosis: mechanisms and clinical relevance in atrial fibrillation*. *J Am Coll Cardiol*, 2008. **51**(8): p. 802-9.
211. Cardin, S., E. Libby, P. Pelletier, S. Le Bouter, A. Shiroshita-Takeshita, N. Le Meur, J. Leger, S. Demolombe, A. Ponton, L. Glass, and S. Nattel, *Contrasting gene expression profiles in two canine models of atrial fibrillation*. *Circ Res*, 2007. **100**(3): p. 425-33.
212. Vasquez, C., N. Benamer and G.E. Morley, *The cardiac fibroblast: functional and electrophysiological considerations in healthy and diseased hearts*. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2011. **57**(4): p. 380-8.
213. Chilton, L., W.R. Giles and G.L. Smith, *Evidence of intercellular coupling between co-cultured adult rabbit ventricular myocytes and myofibroblasts*. *J Physiol*, 2007. **583**(Pt 1): p. 225-36.
214. Patterson, E., S.S. Po, B.J. Scherlag and R. Lazzara, *Triggered firing in pulmonary veins initiated by in vitro autonomic nerve stimulation*. *Heart Rhythm*, 2005. **2**(6): p. 624-31.
215. Andrade, J., P. Khairy, D. Dobrev and S. Nattel, *The clinical profile and pathophysiology of atrial fibrillation: relationships among clinical features, epidemiology, and mechanisms*. *Circ Res*, 2014. **114**(9): p. 1453-68.
216. Allessie, M., J. Ausma and U. Schotten, *Electrical, contractile and structural remodeling during atrial fibrillation*. *Cardiovasc Res*, 2002. **54**(2): p. 230-46.
217. Kourliouros, A., I. Savelieva, A. Kiotsekoglou, M. Jahangiri and J. Camm, *Current concepts in the pathogenesis of atrial fibrillation*. *Am Heart J*, 2009. **157**(2): p. 243-52.
218. Schotten, U., M. Greiser, D. Benke, K. Buerkel, B. Ehrenteidt, C. Stellbrink, J.F. Vazquez-Jimenez, F. Schoendube, P. Hanrath and M. Allessie, *Atrial fibrillation-induced atrial contractile dysfunction: a tachycardiomyopathy of a different sort*. *Cardiovasc Res*, 2002. **53**(1): p. 192-201.

219. Kalifa, J., J. Jalife, A.V. Zaitsev, S. Bagwe, M. Warren, J. Moreno, O. Berenfeld and S. Nattel, *Intra-atrial pressure increases rate and organization of waves emanating from the superior pulmonary veins during atrial fibrillation*. *Circulation*, 2003. **108**(6): p. 668-71.
220. Eijsbouts, S.C., M. Majidi, M. van Zandvoort and M.A. Allesie, *Effects of acute atrial dilation on heterogeneity in conduction in the isolated rabbit heart*. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 2003. **14**(3): p. 269-78.
221. Ravelli, F. and M. Allesie, *Effects of atrial dilatation on refractory period and vulnerability to atrial fibrillation in the isolated Langendorff-perfused rabbit heart*. *Circulation*, 1997. **96**(5): p. 1686-95.
222. Bode, F., A. Katchman, R.L. Woosley and M.R. Franz, *Gadolinium decreases stretch-induced vulnerability to atrial fibrillation*. *Circulation*, 2000. **101**(18): p. 2200-5.
223. Bode, F., F. Sachs and M.R. Franz, *Tarantula peptide inhibits atrial fibrillation*. *Nature*, 2001. **409**(6816): p. 35-6.
224. Opacic, D., K.A. van Bragt, H.M. Nasrallah, U. Schotten and S. Verheule, *Atrial metabolism and tissue perfusion as determinants of electrical and structural remodelling in atrial fibrillation*. *Cardiovasc Res*, 2016. **109**(4): p. 527-41.
225. Li, L., W.E. Louch, S.A. Niederer, K.B. Andersson, G. Christensen, O.M. Sejersted and N.P. Smith, *Calcium dynamics in the ventricular myocytes of SERCA2 knockout mice: A modeling study*. *Biophys J*, 2011. **100**(2): p. 322-31.
226. Bers, D.M., *Cardiac excitation-contraction coupling*. *Nature*, 2002. **415**(6868): p. 198-205.
227. Bers, D.M., D.A. Eisner and H.H. Valdivia, *Sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ and heart failure: roles of diastolic leak and Ca²⁺ transport*. *Circ Res*, 2003. **93**(6): p. 487-90.
228. Hasenfuss, G. and B. Pieske, *Calcium cycling in congestive heart failure*. *J Mol Cell Cardiol*, 2002. **34**(8): p. 951-69.
229. Hasenfuss, G., W. Schillinger, S.E. Lehnart, M. Preuss, B. Pieske, L.S. Maier, J. Prestle, K. Minami and H. Just, *Relationship between Na⁺-Ca²⁺-exchanger protein levels and diastolic function of failing human myocardium*. *Circulation*, 1999. **99**(5): p. 641-8.

230. Hobai, I.A. and B. O'Rourke, *Decreased sarcoplasmic reticulum calcium content is responsible for defective excitation-contraction coupling in canine heart failure*. Circulation, 2001. **103**(11): p. 1577-84.
231. Voigt, N., N. Li, Q. Wang, W. Wang, A.W. Trafford, I. Abu-Taha, Q. Sun, T. Wieland, U. Ravens, S. Nattel, X.H. Wehrens, and D. Dobrev, *Enhanced sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ leak and increased Na⁺-Ca²⁺ exchanger function underlie delayed afterdepolarizations in patients with chronic atrial fibrillation*. Circulation, 2012. **125**(17): p. 2059-70.
232. Lenaerts, I., V. Bito, F.R. Heinzel, R.B. Driesen, P. Holemans, J. D'Hooge, H. Heidbuchel, K.R. Sipido and R. Willems, *Ultrastructural and functional remodeling of the coupling between Ca²⁺ influx and sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ release in right atrial myocytes from experimental persistent atrial fibrillation*. Circ Res, 2009. **105**(9): p. 876-85.
233. Kneller, J., H. Sun, N. Leblanc and S. Nattel, *Remodeling of Ca(2+)-handling by atrial tachycardia: evidence for a role in loss of rate-adaptation*. Cardiovasc Res, 2002. **54**(2): p. 416-26.
234. Gomez-Hurtado, N. and B.C. Knollmann, *Calcium in atrial fibrillation - pulling the trigger or not?* J Clin Invest, 2014. **124**(11): p. 4684-6.
235. Vest, J.A., X.H. Wehrens, S.R. Reiken, S.E. Lehnart, D. Dobrev, P. Chandra, P. Danilo, U. Ravens, M.R. Rosen and A.R. Marks, *Defective cardiac ryanodine receptor regulation during atrial fibrillation*. Circulation, 2005. **111**(16): p. 2025-32.
236. Neef, S., N. Dybkova, S. Sossalla, K.R. Ort, N. Fluschnik, K. Neumann, R. Seipelt, F.A. Schondube, G. Hasenfuss and L.S. Maier, *CaMKII-dependent diastolic SR Ca²⁺ leak and elevated diastolic Ca²⁺ levels in right atrial myocardium of patients with atrial fibrillation*. Circ Res, 2010. **106**(6): p. 1134-44.
237. Chelu, M.G., S. Sarma, S. Sood, S. Wang, R.J. van Oort, D.G. Skapura, N. Li, M. Santonastasi, F.U. Muller, W. Schmitz, U. Schotten, M.E. Anderson, M. Valderrabano, D. Dobrev, and X.H. Wehrens, *Calmodulin kinase II-mediated sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ leak promotes atrial fibrillation in mice*. J Clin Invest, 2009. **119**(7): p. 1940-51.

238. El-Armouche, A., P. Boknik, T. Eschenhagen, L. Carrier, M. Knaut, U. Ravens and D. Dobrev, *Molecular determinants of altered Ca²⁺ handling in human chronic atrial fibrillation*. *Circulation*, 2006. **114**(7): p. 670-80.
239. Hove-Madsen, L., A. Llach, A. Bayes-Genis, S. Roura, E. Rodriguez Font, A. Aris and J. Cinca, *Atrial fibrillation is associated with increased spontaneous calcium release from the sarcoplasmic reticulum in human atrial myocytes*. *Circulation*, 2004. **110**(11): p. 1358-63.
240. Faggioni, M., E. Savio-Galimberti, R. Venkataraman, H.S. Hwang, P.J. Kannankeril, D. Darbar and B.C. Knollmann, *Suppression of spontaneous Ca elevations prevents atrial fibrillation in calsequestrin 2-null hearts*. *Circ Arrhythm Electrophysiol*, 2014. **7**(2): p. 313-20.
241. Dobrev, D. and S. Nattel, *Calcium handling abnormalities in atrial fibrillation as a target for innovative therapeutics*. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2008. **52**(4): p. 293-9.
242. Dai, J., H. Zhang, Y. Chen, Y. Chang, Q. Yuan, G. Ji and K. Zhai, *Characterization of Ca⁺ handling proteins and contractile proteins in patients with lone atrial fibrillation*. *Int J Cardiol*, 2016. **202**: p. 749-51.
243. Greiser, M. and U. Schotten, *Dynamic remodeling of intracellular Ca(2)(+) signaling during atrial fibrillation*. *J Mol Cell Cardiol*, 2013. **58**: p. 134-42.
244. Walden, A.P., K.M. Dibb and A.W. Trafford, *Differences in intracellular calcium homeostasis between atrial and ventricular myocytes*. *J Mol Cell Cardiol*, 2009. **46**(4): p. 463-73.
245. Choi, E.K., P.C. Chang, Y.S. Lee, S.F. Lin, W. Zhu, M. Maruyama, M.C. Fishbein, Z. Chen, M. Rubart-von der Lohe, L.J. Field, and P.S. Chen, *Triggered firing and atrial fibrillation in transgenic mice with selective atrial fibrosis induced by overexpression of TGF-beta1*. *Circ J*, 2012. **76**(6): p. 1354-62.
246. Barana, A., M. Matamoros, P. Dolz-Gaiton, M. Perez-Hernandez, I. Amoros, M. Nunez, S. Sacristan, A. Pedraz, A. Pinto, F. Fernandez-Aviles, J. Tamargo, E. Delpon, and R. Caballero, *Chronic atrial fibrillation increases microRNA-21 in human atrial myocytes decreasing L-type calcium current*. *Circ Arrhythm Electrophysiol*, 2014. **7**(5): p. 861-8.

247. Janes, R.D., D.E. Johnstone, J.C. Brandys and J.A. Armour, *Functional and anatomical variability of canine cardiac sympathetic efferent pathways: implications for regional denervation of the left ventricle*. Can J Physiol Pharmacol, 1986. **64**(7): p. 958-69.
248. Armour, J.A., D.A. Murphy, B.X. Yuan, S. Macdonald and D.A. Hopkins, *Gross and microscopic anatomy of the human intrinsic cardiac nervous system*. Anat Rec, 1997. **247**(2): p. 289-98.
249. Amar, D., H. Zhang, S. Miodownik and A.H. Kadish, *Competing autonomic mechanisms precede the onset of postoperative atrial fibrillation*. J Am Coll Cardiol, 2003. **42**(7): p. 1262-8.
250. Ardell, J.L., *The cardiac neuronal hierarchy and susceptibility to arrhythmias*. Heart Rhythm, 2011. **8**(4): p. 590-1.
251. Armour, J.A., L.P. Richer, P. Page, A. Vinet, T. Kus, M. Vermeulen, R. Nadeau and R. Cardinal, *Origin and pharmacological response of atrial tachyarrhythmias induced by activation of mediastinal nerves in canines*. Auton Neurosci, 2005. **118**(1-2): p. 68-78.
252. Chen, P.S. and A.Y. Tan, *Autonomic nerve activity and atrial fibrillation*. Heart Rhythm, 2007. **4**(3 Suppl): p. S61-4.
253. Billman, G.E., *A comprehensive review and analysis of 25 years of data from an in vivo canine model of sudden cardiac death: implications for future anti-arrhythmic drug development*. Pharmacol Ther, 2006. **111**(3): p. 808-35.
254. Scherlag, B.J. and S. Po, *The intrinsic cardiac nervous system and atrial fibrillation*. Curr Opin Cardiol, 2006. **21**(1): p. 51-4.
255. Nattel, S. and D. Dobrev, *The multidimensional role of calcium in atrial fibrillation pathophysiology: mechanistic insights and therapeutic opportunities*. Eur Heart J, 2012. **33**(15): p. 1870-7.
256. Chen, P.S., L.S. Chen, M.C. Fishbein, S.F. Lin and S. Nattel, *Role of the autonomic nervous system in atrial fibrillation: pathophysiology and therapy*. Circ Res, 2014. **114**(9): p. 1500-15.
257. Arora, R., *Recent insights into the role of the autonomic nervous system in the creation of substrate for atrial fibrillation: implications for therapies targeting the atrial autonomic nervous system*. Circ Arrhythm Electrophysiol, 2012. **5**(4): p. 850-9.

258. Bartos, D.C., J.R. Giudicessi, D.J. Tester, M.J. Ackerman, S. Ohno, M. Horie, M.H. Gollob, D.E. Burgess and B.P. Delisle, *A KCNQ1 mutation contributes to the concealed type 1 long QT phenotype by limiting the Kv7.1 channel conformational changes associated with protein kinase A phosphorylation*. Heart Rhythm, 2014. **11**(3): p. 459-68.
259. Sato, K., M. Ohtsuyama and F. Sato, *Whole cell K and Cl currents in dissociated eccrine secretory coil cells during stimulation*. J Membr Biol, 1993. **134**(2): p. 93-106.
260. Rivard, K., V. Trepanier-Boulay, H. Rindt and C. Fiset, *Electrical remodeling in a transgenic mouse model of alpha1B-adrenergic receptor overexpression*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2009. **296**(3): p. H704-18.
261. Sato, R. and S. Koumi, *Modulation of the inwardly rectifying K⁺ channel in isolated human atrial myocytes by alpha 1-adrenergic stimulation*. J Membr Biol, 1995. **148**(2): p. 185-91.
262. Patterson, E., R. Lazzara, B. Szabo, H. Liu, D. Tang, Y.H. Li, B.J. Scherlag and S.S. Po, *Sodium-calcium exchange initiated by the Ca²⁺ transient: an arrhythmia trigger within pulmonary veins*. J Am Coll Cardiol, 2006. **47**(6): p. 1196-206.
263. Gould, P.A., M. Yui, C. McLean, S. Finch, T. Marshall, G.W. Lambert and D.M. Kaye, *Evidence for increased atrial sympathetic innervation in persistent human atrial fibrillation*. Pacing Clin Electrophysiol, 2006. **29**(8): p. 821-9.
264. Carson, M.P., A.J. Fisher and W.E. Scorza, *Atrial fibrillation in pregnancy associated with oral terbutaline*. Obstet Gynecol, 2002. **100**(5 Pt 2): p. 1096-7.
265. Lymperopoulos, A., G. Rengo and W.J. Koch, *Adrenergic nervous system in heart failure: pathophysiology and therapy*. Circ Res, 2013. **113**(6): p. 739-53.
266. Deneke, T., H. Chaar, J.R. de Groot, A.A. Wilde, T. Lawo, J. Mundig, L. Bosche, A. Mugge and P.H. Grewe, *Shift in the pattern of autonomic atrial innervation in subjects with persistent atrial fibrillation*. Heart Rhythm, 2011. **8**(9): p. 1357-63.
267. Liu, L. and S. Nattel, *Differing sympathetic and vagal effects on atrial fibrillation in dogs: role of refractoriness heterogeneity*. Am J Physiol, 1997. **273**(2 Pt 2): p. H805-16.
268. Nemirovsky, D., R. Hutter and J.A. Gomes, *The electrical substrate of vagal atrial fibrillation as assessed by the signal-averaged electrocardiogram of the P wave*. Pacing Clin Electrophysiol, 2008. **31**(3): p. 308-13.

269. Sharifov, O.F., V.V. Fedorov, G.G. Beloshapko, A.V. Glukhov, A.V. Yushmanova and L.V. Rosenshtraukh, *Roles of adrenergic and cholinergic stimulation in spontaneous atrial fibrillation in dogs*. J Am Coll Cardiol, 2004. **43**(3): p. 483-90.
270. Mehta, P.K. and K.K. Griendling, *Angiotensin II cell signaling: physiological and pathological effects in the cardiovascular system*. Am J Physiol Cell Physiol, 2007. **292**(1): p. C82-97.
271. Iravanian, S. and S.C. Dudley, Jr., *The renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) and cardiac arrhythmias*. Heart Rhythm, 2008. **5**(6 Suppl): p. S12-7.
272. Bader, M., *Tissue renin-angiotensin-aldosterone systems: Targets for pharmacological therapy*. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 2010. **50**: p. 439-65.
273. Emdad, L., M. Uzzaman, Y. Takagishi, H. Honjo, T. Uchida, N.J. Severs, I. Kodama and Y. Murata, *Gap junction remodeling in hypertrophied left ventricles of aortic-banded rats: prevention by angiotensin II type I receptor blockade*. J Mol Cell Cardiol, 2001. **33**(2): p. 219-31.
274. Boldt, A., U. Wetzel, J. Weigl, J. Garbade, J. Lauschke, G. Hindricks, H. Kottkamp, J.F. Gummert and S. Dhein, *Expression of angiotensin II receptors in human left and right atrial tissue in atrial fibrillation with and without underlying mitral valve disease*. J Am Coll Cardiol, 2003. **42**(10): p. 1785-92.
275. Goette, A., M. Arndt, C. Rocken, A. Spiess, T. Staack, J.C. Geller, C. Huth, S. Ansoerge, H.U. Klein and U. Lendeckel, *Regulation of angiotensin II receptor subtypes during atrial fibrillation in humans*. Circulation, 2000. **101**(23): p. 2678-81.
276. Nattel, S., *Atrial electrophysiology and mechanisms of atrial fibrillation*. J Cardiovasc Pharmacol Ther, 2003. **8 Suppl 1**: p. S5-11.
277. Li, D., K. Shinagawa, L. Pang, T.K. Leung, S. Cardin, Z. Wang and S. Nattel, *Effects of angiotensin-converting enzyme inhibition on the development of the atrial fibrillation substrate in dogs with ventricular tachypacing-induced congestive heart failure*. Circulation, 2001. **104**(21): p. 2608-14.
278. D'Angelo, D.D., Y. Sakata, J.N. Lorenz, G.P. Boivin, R.A. Walsh, S.B. Liggett and G.W. Dorn, 2nd, *Transgenic Galphaq overexpression induces cardiac contractile failure in mice*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1997. **94**(15): p. 8121-6.

279. Adams, J.W., Y. Sakata, M.G. Davis, V.P. Sah, Y. Wang, S.B. Liggett, K.R. Chien, J.H. Brown and G.W. Dorn, 2nd, *Enhanced Galphaq signaling: a common pathway mediates cardiac hypertrophy and apoptotic heart failure*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1998. **95**(17): p. 10140-5.
280. Ozgen, N., Z. Lu, G.J. Boink, D.H. Lau, I.N. Shlapakova, Y. Bobkov, P. Danilo, Jr., I.S. Cohen and M.R. Rosen, *Microtubules and angiotensin II receptors contribute to modulation of repolarization induced by ventricular pacing*. Heart Rhythm, 2012. **9**(11): p. 1865-72.
281. Gao, J., X. Sun, I.A. Potapova, I.S. Cohen, R.T. Mathias and J.H. Kim, *Autocrine A2 in the T-system of ventricular myocytes creates transmural gradients in ion transport: a mechanism to match contraction with load?* Biophys J, 2014. **106**(11): p. 2364-74.
282. Kim, J., J. Gao, I.S. Cohen and R.T. Mathias, *Angiotensin II Type 1 Receptor-Mediated Electrical Remodeling in Mouse Cardiac Myocytes*. PLoS One, 2015. **10**(10): p. e0138711.
283. Rajagopal, K., E.J. Whalen, J.D. Violin, J.A. Stiber, P.B. Rosenberg, R.T. Premont, T.M. Coffman, H.A. Rockman and R.J. Lefkowitz, *Beta-arrestin2-mediated inotropic effects of the angiotensin II type 1A receptor in isolated cardiac myocytes*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2006. **103**(44): p. 16284-9.
284. Monasky, M.M., D.M. Taglieri, M. Henze, C.M. Warren, M.S. Utter, D.G. Soergel, J.D. Violin and R.J. Solaro, *The beta-arrestin-biased ligand TRV120023 inhibits angiotensin II-induced cardiac hypertrophy while preserving enhanced myofilament response to calcium*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2013. **305**(6): p. H856-66.
285. Domenighetti, A.A., C. Boixel, D. Cefai, H. Abriel and T. Pedrazzini, *Chronic angiotensin II stimulation in the heart produces an acquired long QT syndrome associated with IK1 potassium current downregulation*. J Mol Cell Cardiol, 2007. **42**(1): p. 63-70.
286. Gao, Y., R. Yokota, S. Tang, A.W. Ashton and J.A. Ware, *Reversal of angiogenesis in vitro, induction of apoptosis, and inhibition of AKT phosphorylation in endothelial cells by thromboxane A(2)*. Circ Res, 2000. **87**(9): p. 739-45.
287. Yu, H., J. Gao, H. Wang, R. Wymore, S. Steinberg, D. McKinnon, M.R. Rosen and I.S. Cohen, *Effects of the renin-angiotensin system on the current I(to) in epicardial and*

- endocardial ventricular myocytes from the canine heart.* Circ Res, 2000. **86**(10): p. 1062-8.
288. Ichiyanagi, O., K. Ishii and M. Endoh, *Angiotensin II increases L-type Ca²⁺ current in gramicidin D-perforated adult rabbit ventricular myocytes: comparison with conventional patch-clamp method.* Pflugers Arch, 2002. **444**(1-2): p. 107-16.
289. Aiello, E.A. and H.E. Cingolani, *Angiotensin II stimulates cardiac L-type Ca(2+) current by a Ca(2+)- and protein kinase C-dependent mechanism.* Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2001. **280**(4): p. H1528-36.
290. Rivard, K., S.A. Grandy, A. Douillette, P. Paradis, M. Nemer, B.G. Allen and C. Fiset, *Overexpression of type 1 angiotensin II receptors impairs excitation-contraction coupling in the mouse heart.* Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2011. **301**(5): p. H2018-27.
291. Kasi, V.S., H.D. Xiao, L.L. Shang, S. Irvanian, J. Langberg, E.A. Witham, Z. Jiao, C.J. Gallego, K.E. Bernstein and S.C. Dudley, Jr., *Cardiac-restricted angiotensin-converting enzyme overexpression causes conduction defects and connexin dysregulation.* Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2007. **293**(1): p. H182-92.
292. Mathieu, S., N. El Khoury, K. Rivard, R. Gelinas, P. Goyette, P. Paradis, M. Nemer and C. Fiset, *Reduction in Na(+) current by angiotensin II is mediated by PKC α in mouse and human-induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes.* Heart Rhythm, 2016. **13**(6): p. 1346-54.
293. Rivard, K., P. Paradis, M. Nemer and C. Fiset, *Cardiac-specific overexpression of the human type 1 angiotensin II receptor causes delayed repolarization.* Cardiovasc Res, 2008. **78**(1): p. 53-62.
294. Hunyady, L. and K.J. Catt, *Pleiotropic AT1 receptor signaling pathways mediating physiological and pathogenic actions of angiotensin II.* Mol Endocrinol, 2006. **20**(5): p. 953-70.
295. Gassanov, N., M.C. Brandt, G. Michels, M. Lindner, F. Er and U.C. Hoppe, *Angiotensin II-induced changes of calcium sparks and ionic currents in human atrial myocytes: potential role for early remodeling in atrial fibrillation.* Cell Calcium, 2006. **39**(2): p. 175-86.

296. Fulop, L., T. Banyasz, G. Szabo, I.B. Toth, T. Biro, I. Lorincz, A. Balogh, K. Peto, I. Miko and P.P. Nanasi, *Effects of sex hormones on ECG parameters and expression of cardiac ion channels in dogs*. Acta Physiol (Oxf), 2006. **188**(3-4): p. 163-71.
297. Brouillette, J., V. Trepanier-Boulay and C. Fiset, *Effect of androgen deficiency on mouse ventricular repolarization*. J Physiol, 2003. **546**(Pt 2): p. 403-13.
298. Saito, T., A. Ciobotaru, J.C. Bopassa, L. Toro, E. Stefani and M. Eghbali, *Estrogen contributes to gender differences in mouse ventricular repolarization*. Circ Res, 2009. **105**(4): p. 343-52.
299. Xiao, L., L. Zhang, W. Han, Z. Wang and S. Nattel, *Sex-based transmural differences in cardiac repolarization and ionic-current properties in canine left ventricles*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2006. **291**(2): p. H570-80.
300. Gaborit, N., A. Varro, S. Le Bouter, V. Szuts, D. Escande, S. Nattel and S. Demolombe, *Gender-related differences in ion-channel and transporter subunit expression in non-diseased human hearts*. J Mol Cell Cardiol, 2010. **49**(4): p. 639-46.
301. Yang, H., P. Elko, B.S. Fromm, J.J. Baga, L.A. Pires, C.D. Schuger, R.T. Steinman and M.H. Lehmann, *Maximal ascending and descending slopes of the T wave in men and women*. J Electrocardiol, 1997. **30**(4): p. 267-76.
302. Tadros, R., A.T. Ton, C. Fiset and S. Nattel, *Sex differences in cardiac electrophysiology and clinical arrhythmias: epidemiology, therapeutics, and mechanisms*. Can J Cardiol, 2014. **30**(7): p. 783-92.
303. Kurokawa, J., M. Kodama, C.E. Clancy and T. Furukawa, *Sex hormonal regulation of cardiac ion channels in drug-induced QT syndromes*. Pharmacol Ther, 2016. **168**: p. 23-28.
304. Odening, K.E. and G. Koren, *How do sex hormones modify arrhythmogenesis in long QT syndrome? Sex hormone effects on arrhythmogenic substrate and triggered activity*. Heart Rhythm, 2014. **11**(11): p. 2107-15.
305. Gillis, A.M., *Atrial Fibrillation and Ventricular Arrhythmias: Sex Differences in Electrophysiology, Epidemiology, Clinical Presentation, and Clinical Outcomes*. Circulation, 2017. **135**(6): p. 593-608.
306. Rivero, A. and A.B. Curtis, *Sex differences in arrhythmias*. Curr Opin Cardiol, 2010. **25**(1): p. 8-15.

307. Makkar, R.R., B.S. Fromm, R.T. Steinman, M.D. Meissner and M.H. Lehmann, *Female gender as a risk factor for torsades de pointes associated with cardiovascular drugs*. JAMA, 1993. **270**(21): p. 2590-7.
308. Peters, R.W. and M.R. Gold, *The influence of gender on arrhythmias*. Cardiol Rev, 2004. **12**(2): p. 97-105.
309. Teodorescu, C., K. Reinier, A. Uy-Evanado, J. Ayala, R. Mariani, L. Wittwer, K. Gunson, J. Jui and S.S. Chugh, *Survival advantage from ventricular fibrillation and pulseless electrical activity in women compared to men: the Oregon Sudden Unexpected Death Study*. J Interv Card Electrophysiol, 2012. **34**(3): p. 219-25.
310. Safdar, B., U. Stolz, I.G. Stiell, D.C. Cone, B.J. Bobrow, M. deBoehr, J. Dreyer, J. Maloney and D.W. Spaite, *Differential survival for men and women from out-of-hospital cardiac arrest varies by age: results from the OPALS study*. Acad Emerg Med, 2014. **21**(12): p. 1503-11.
311. Locati, E.H., W. Zareba, A.J. Moss, P.J. Schwartz, G.M. Vincent, M.H. Lehmann, J.A. Towbin, S.G. Priori, C. Napolitano, J.L. Robinson, M. Andrews, K. Timothy, and W.J. Hall, *Age- and sex-related differences in clinical manifestations in patients with congenital long-QT syndrome: findings from the International LQTS Registry*. Circulation, 1998. **97**(22): p. 2237-44.
312. Goldenberg, I., A.J. Moss, J. Bradley, S. Polonsky, D.R. Peterson, S. McNitt, W. Zareba, M.L. Andrews, J.L. Robinson, M.J. Ackerman, J. Benhorin, E.S. Kaufman, E.H. Locati, C. Napolitano, S.G. Priori, M. Qi, P.J. Schwartz, J.A. Towbin, G.M. Vincent, and L. Zhang, *Long-QT syndrome after age 40*. Circulation, 2008. **117**(17): p. 2192-201.
313. Hobbs, J.B., D.R. Peterson, A.J. Moss, S. McNitt, W. Zareba, I. Goldenberg, M. Qi, J.L. Robinson, A.J. Sauer, M.J. Ackerman, J. Benhorin, E.S. Kaufman, E.H. Locati, C. Napolitano, S.G. Priori, J.A. Towbin, G.M. Vincent, and L. Zhang, *Risk of aborted cardiac arrest or sudden cardiac death during adolescence in the long-QT syndrome*. JAMA, 2006. **296**(10): p. 1249-54.
314. Zareba, W., A.J. Moss, E.H. Locati, M.H. Lehmann, D.R. Peterson, W.J. Hall, P.J. Schwartz, G.M. Vincent, S.G. Priori, J. Benhorin, J.A. Towbin, J.L. Robinson, M.L. Andrews, C. Napolitano, K. Timothy, L. Zhang, A. Medina, and Q.T.S.R. International

- Long, *Modulating effects of age and gender on the clinical course of long QT syndrome by genotype*. J Am Coll Cardiol, 2003. **42**(1): p. 103-9.
315. Rautaharju, P.M., S.H. Zhou, S. Wong, H.P. Calhoun, G.S. Berenson, R. Prineas and A. Davignon, *Sex differences in the evolution of the electrocardiographic QT interval with age*. Can J Cardiol, 1992. **8**(7): p. 690-5.
316. Stramba-Badiale, M., E.H. Locati, A. Martinelli, J. Courville and P.J. Schwartz, *Gender and the relationship between ventricular repolarization and cardiac cycle length during 24-h Holter recordings*. Eur Heart J, 1997. **18**(6): p. 1000-6.
317. Bidoggia, H., J.P. Maciel, N. Capalozza, S. Mosca, E.J. Blaksley, E. Valverde, G. Bertran, P. Arini, M.O. Biagetti and R.A. Quinteiro, *Sex differences on the electrocardiographic pattern of cardiac repolarization: possible role of testosterone*. Am Heart J, 2000. **140**(4): p. 678-83.
318. Stolt, A., T. Karila, M. Viitasalo, M. Mantysaari, U.M. Kujala and J. Karjalainen, *QT interval and QT dispersion in endurance athletes and in power athletes using large doses of anabolic steroids*. Am J Cardiol, 1999. **84**(3): p. 364-6, A9.
319. Larsen, J.A., R.H. Tung, R. Sadananda, J.J. Goldberger, G. Horvath, M.A. Parker and A.H. Kadish, *Effects of hormone replacement therapy on QT interval*. Am J Cardiol, 1998. **82**(8): p. 993-5.
320. Antzelevitch, C., *Molecular biology and cellular mechanisms of Brugada and long QT syndromes in infants and young children*. J Electrocardiol, 2001. **34 Suppl**: p. 177-81.
321. Delaney, J.T., R. Muhammad, M.A. Blair, K. Kor, F.A. Fish, D.M. Roden and D. Darbar, *A KCNJ8 mutation associated with early repolarization and atrial fibrillation*. Europace, 2012. **14**(10): p. 1428-32.
322. Belhassen, B. and S. Viskin, *Idiopathic ventricular tachycardia and fibrillation*. J Cardiovasc Electrophysiol, 1993. **4**(3): p. 356-68.
323. Viskin, S. and B. Belhassen, *Idiopathic ventricular fibrillation*. Am Heart J, 1990. **120**(3): p. 661-71.
324. Macfarlane, P.W., S.C. McLaughlin, B. Devine and T.F. Yang, *Effects of age, sex, and race on ECG interval measurements*. J Electrocardiol, 1994. **27 Suppl**: p. 14-9.
325. Suenari, K., Y.F. Hu, H.M. Tsao, C.T. Tai, C.E. Chiang, Y.J. Lin, S.L. Chang, L.W. Lo, T. Ta-Chuan, P.C. Lee, N.H. Tung, S.Y. Huang, T.J. Wu, and S.A. Chen, *Gender*

- differences in the clinical characteristics and atrioventricular nodal conduction properties in patients with atrioventricular nodal reentrant tachycardia.* J Cardiovasc Electrophysiol, 2010. **21**(10): p. 1114-9.
326. Rodriguez, L.M., C. de Chillou, J. Schlapfer, J. Metzger, X. Baiyan, A. van den Dool, J.L. Smeets and H.J. Wellens, *Age at onset and gender of patients with different types of supraventricular tachycardias.* Am J Cardiol, 1992. **70**(13): p. 1213-5.
327. Friberg, J., H. Scharling, N. Gadsboll, T. Truelsen, G.B. Jensen and S. Copenhagen City Heart, *Comparison of the impact of atrial fibrillation on the risk of stroke and cardiovascular death in women versus men (The Copenhagen City Heart Study).* Am J Cardiol, 2004. **94**(7): p. 889-94.
328. Fischer, T.H., J. Herting, J. Eiringhaus, S. Pabel, N.H. Hartmann, D. Ellenberger, M. Friedrich, A. Renner, J. Gummert, L.S. Maier, M. Zabel, G. Hasenfuss, and S. Sossalla, *Sex-dependent alterations of Ca²⁺ cycling in human cardiac hypertrophy and heart failure.* Europace, 2016. **18**(9): p. 1440-8.
329. Benjamin, E.J., D. Levy, S.M. Vaziri, R.B. D'Agostino, A.J. Belanger and P.A. Wolf, *Independent risk factors for atrial fibrillation in a population-based cohort. The Framingham Heart Study.* JAMA, 1994. **271**(11): p. 840-4.
330. Ko, D., F. Rahman, R.B. Schnabel, X. Yin, E.J. Benjamin and I.E. Christophersen, *Atrial fibrillation in women: epidemiology, pathophysiology, presentation, and prognosis.* Nat Rev Cardiol, 2016. **13**(6): p. 321-32.
331. Go, A.S., E.M. Hylek, K.A. Phillips, Y. Chang, L.E. Henault, J.V. Selby and D.E. Singer, *Prevalence of diagnosed atrial fibrillation in adults: national implications for rhythm management and stroke prevention: the AnTicoagulation and Risk Factors in Atrial Fibrillation (ATRIA) Study.* JAMA, 2001. **285**(18): p. 2370-5.
332. Pham, T.V. and M.R. Rosen, *Sex, hormones, and repolarization.* Cardiovasc Res, 2002. **53**(3): p. 740-51.
333. Trepanier-Boulay, V., C. St-Michel, A. Tremblay and C. Fiset, *Gender-based differences in cardiac repolarization in mouse ventricle.* Circ Res, 2001. **89**(5): p. 437-44.

334. Brouillette, J., K. Rivard, E. Lizotte and C. Fiset, *Sex and strain differences in adult mouse cardiac repolarization: importance of androgens*. Cardiovasc Res, 2005. **65**(1): p. 148-57.
335. El Gebeily, G. and C. Fiset, *Upregulation of ventricular potassium channels by chronic tamoxifen treatment*. Cardiovasc Res, 2011. **90**(1): p. 68-76.
336. El Gebeily, G., N. El Khoury, S. Mathieu, J. Brouillette and C. Fiset, *Estrogen regulation of the transient outward K(+) current involves estrogen receptor alpha in mouse heart*. J Mol Cell Cardiol, 2015. **86**: p. 85-94.
337. Tse, H.F., H. Oral, F. Pelosi, B.P. Knight, S.A. Strickberger and F. Morady, *Effect of gender on atrial electrophysiologic changes induced by rapid atrial pacing and elevation of atrial pressure*. J Cardiovasc Electrophysiol, 2001. **12**(9): p. 986-9.
338. Nakajima, T., K. Iwasawa, H. Oonuma, T. Morita, A. Goto, Y. Wang and H. Hazama, *Antiarrhythmic effect and its underlying ionic mechanism of 17beta-estradiol in cardiac myocytes*. Br J Pharmacol, 1999. **127**(2): p. 429-40.
339. Tanabe, S., T. Hata and M. Hiraoka, *Effects of estrogen on action potential and membrane currents in guinea pig ventricular myocytes*. Am J Physiol, 1999. **277**(2 Pt 2): p. H826-33.
340. Rosano, G.M., F. Leonardo, C. Dicandia, I. Sheiban, P. Pagnotta, C. Pappone and S.L. Chierchia, *Acute electrophysiologic effect of estradiol 17beta in menopausal women*. Am J Cardiol, 2000. **86**(12): p. 1385-7, A5-6.
341. Tsai, W.C., Y.C. Chen, Y.H. Kao, Y.Y. Lu, S.A. Chen and Y.J. Chen, *Distinctive sodium and calcium regulation associated with sex differences in atrial electrophysiology of rabbits*. Int J Cardiol, 2013. **168**(5): p. 4658-66.
342. El Khoury, N., S. Mathieu, L. Marger, J. Ross, G. El Gebeily, N. Ethier and C. Fiset, *Upregulation of the hyperpolarization-activated current increases pacemaker activity of the sinoatrial node and heart rate during pregnancy in mice*. Circulation, 2013. **127**(20): p. 2009-20.
343. Paradis, P., N. Dali-Youcef, F.W. Paradis, G. Thibault and M. Nemer, *Overexpression of angiotensin II type I receptor in cardiomyocytes induces cardiac hypertrophy and remodeling*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2000. **97**(2): p. 931-6.

344. Taigen, T., L.J. De Windt, H.W. Lim and J.D. Molkentin, *Targeted inhibition of calcineurin prevents agonist-induced cardiomyocyte hypertrophy*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2000. **97**(3): p. 1196-201.
345. Harvey, P.A. and L.A. Leinwand, *The cell biology of disease: cellular mechanisms of cardiomyopathy*. J Cell Biol, 2011. **194**(3): p. 355-65.
346. Shang, L.L., S. Sanyal, A.E. Pfahnl, Z. Jiao, J. Allen, H. Liu and S.C. Dudley, Jr., *NF-kappaB-dependent transcriptional regulation of the cardiac *scn5a* sodium channel by angiotensin II*. Am J Physiol Cell Physiol, 2008. **294**(1): p. C372-9.
347. Sovari, A.A., S. Iravani, E. Dolmatova, Z. Jiao, H. Liu, S. Zandieh, V. Kumar, K. Wang, K.E. Bernstein, M.G. Bonini, H.S. Duffy, and S.C. Dudley, *Inhibition of c-Src tyrosine kinase prevents angiotensin II-mediated connexin-43 remodeling and sudden cardiac death*. J Am Coll Cardiol, 2011. **58**(22): p. 2332-9.
348. Warn-Cramer, B.J. and A.F. Lau, *Regulation of gap junctions by tyrosine protein kinases*. Biochim Biophys Acta, 2004. **1662**(1-2): p. 81-95.
349. Saffitz, J.E., R.B. Schuessler and K.A. Yamada, *Mechanisms of remodeling of gap junction distributions and the development of anatomic substrates of arrhythmias*. Cardiovasc Res, 1999. **42**(2): p. 309-17.
350. Toyofuku, T., Y. Akamatsu, H. Zhang, T. Kuzuya, M. Tada and M. Hori, *c-Src regulates the interaction between connexin-43 and ZO-1 in cardiac myocytes*. J Biol Chem, 2001. **276**(3): p. 1780-8.
351. Yasuno, S., K. Kuwahara, H. Kinoshita, C. Yamada, Y. Nakagawa, S. Usami, Y. Kuwabara, K. Ueshima, M. Harada, T. Nishikimi, and K. Nakao, *Angiotensin II type 1a receptor signalling directly contributes to the increased arrhythmogenicity in cardiac hypertrophy*. Br J Pharmacol, 2013. **170**(7): p. 1384-95.
352. Jiao, K.L., Y.G. Li, P.P. Zhang, R.H. Chen and Y. Yu, *Effects of valsartan on ventricular arrhythmia induced by programmed electrical stimulation in rats with myocardial infarction*. J Cell Mol Med, 2012. **16**(6): p. 1342-51.
353. Donoghue, M., H. Wakimoto, C.T. Maguire, S. Acton, P. Hales, N. Stagliano, V. Fairchild-Huntress, J. Xu, J.N. Lorenz, V. Kadambi, C.I. Berul, and R.E. Breitbart, *Heart block, ventricular tachycardia, and sudden death in ACE2 transgenic mice with downregulated connexins*. J Mol Cell Cardiol, 2003. **35**(9): p. 1043-53.

354. Hallaq, H., D.W. Wang, J.D. Kunic, A.L. George, Jr., K.S. Wells and K.T. Murray, *Activation of protein kinase C alters the intracellular distribution and mobility of cardiac Na⁺ channels*. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2012. **302**(3): p. H782-9.
355. Cho, H., K. Harrison, O. Schwartz and J.H. Kehrl, *The aorta and heart differentially express RGS (regulators of G-protein signalling) proteins that selectively regulate sphingosine 1-phosphate, angiotensin II and endothelin-1 signalling*. *Biochem J*, 2003. **371**(Pt 3): p. 973-80.
356. Qin, M., H. Huang, T. Wang, H. Hu, Y. Liu, H. Cao, H. Li and C. Huang, *Absence of Rgs5 prolongs cardiac repolarization and predisposes to ventricular tachyarrhythmia in mice*. *J Mol Cell Cardiol*, 2012. **53**(6): p. 880-90.
357. Zhou, J., K. Moroi, M. Nishiyama, H. Usui, N. Seki, J. Ishida, A. Fukamizu and S. Kimura, *Characterization of RGS5 in regulation of G protein-coupled receptor signaling*. *Life Sci*, 2001. **68**(13): p. 1457-69.
358. Revankar, C.M., C.M. Vines, D.F. Cimino and E.R. Prossnitz, *Arrestins block G protein-coupled receptor-mediated apoptosis*. *J Biol Chem*, 2004. **279**(23): p. 24578-84.
359. Hunton, D.L., W.G. Barnes, J. Kim, X.R. Ren, J.D. Violin, E. Reiter, G. Milligan, D.D. Patel and R.J. Lefkowitz, *Beta-arrestin 2-dependent angiotensin II type 1A receptor-mediated pathway of chemotaxis*. *Mol Pharmacol*, 2005. **67**(4): p. 1229-36.
360. DeWire, S.M., J. Kim, E.J. Whalen, S. Ahn, M. Chen and R.J. Lefkowitz, *Beta-arrestin-mediated signaling regulates protein synthesis*. *J Biol Chem*, 2008. **283**(16): p. 10611-20.
361. Ahn, S., J. Kim, M.R. Hara, X.R. Ren and R.J. Lefkowitz, *{beta}-Arrestin-2 Mediates Anti-apoptotic Signaling through Regulation of BAD Phosphorylation*. *J Biol Chem*, 2009. **284**(13): p. 8855-65.
362. Takimoto, E., N. Koitabashi, S. Hsu, E.A. Ketner, M. Zhang, T. Nagayama, D. Bedja, K.L. Gabrielson, R. Blanton, D.P. Siderovski, M.E. Mendelsohn, and D.A. Kass, *Regulator of G protein signaling 2 mediates cardiac compensation to pressure overload and antihypertrophic effects of PDE5 inhibition in mice*. *J Clin Invest*, 2009. **119**(2): p. 408-20.

363. Matsuzaki, N., M. Nishiyama, D. Song, K. Moroi and S. Kimura, *Potent and selective inhibition of angiotensin AT1 receptor signaling by RGS2: roles of its N-terminal domain*. Cell Signal, 2011. **23**(6): p. 1041-9.
364. Park-Windhol, C., P. Zhang, M. Zhu, J. Su, L. Chaves, Jr., A.E. Maldonado, M.E. King, L. Rickey, D. Cullen and U. Mende, *Gq/11-mediated signaling and hypertrophy in mice with cardiac-specific transgenic expression of regulator of G-protein signaling 2*. PLoS One, 2012. **7**(7): p. e40048.
365. Mathieu, S., N. El Khoury, K. Rivard, P. Paradis, M. Nemer and C. Fiset, *Angiotensin II Overstimulation Leads to an Increased Susceptibility to Dilated Cardiomyopathy and Higher Mortality in Female Mice*. Sci Rep, 2018. **8**(1): p. 952.
366. Bai, C.X., J. Kurokawa, M. Tamagawa, H. Nakaya and T. Furukawa, *Nontranscriptional regulation of cardiac repolarization currents by testosterone*. Circulation, 2005. **112**(12): p. 1701-10.
367. Johnson, B.D., W. Zheng, K.S. Korach, T. Scheuer, W.A. Catterall and G.M. Rubanyi, *Increased expression of the cardiac L-type calcium channel in estrogen receptor-deficient mice*. J Gen Physiol, 1997. **110**(2): p. 135-40.
368. Meyer, R., K.W. Linz, R. Surges, S. Meinardus, J. Veas, A. Hoffmann, O. Windholz and C. Grohe, *Rapid modulation of L-type calcium current by acutely applied oestrogens in isolated cardiac myocytes from human, guinea-pig and rat*. Exp Physiol, 1998. **83**(3): p. 305-21.
369. Lucas-Herald, A.K., R. Alves-Lopes, A.C. Montezano, S.F. Ahmed and R.M. Touyz, *Genomic and non-genomic effects of androgens in the cardiovascular system: clinical implications*. Clin Sci (Lond), 2017. **131**(13): p. 1405-1418.
370. Foradori, C.D., M.J. Weiser and R.J. Handa, *Non-genomic actions of androgens*. Front Neuroendocrinol, 2008. **29**(2): p. 169-81.
371. Jennings, M.M. and J.K. Donahue, *Connexin Remodeling Contributes to Atrial Fibrillation*. J Atr Fibrillation, 2013. **6**(2): p. 839.
372. Pfannmuller, B., A. Boldt, A. Reutemann, N. Duerschmidt, S. Krabbes-Graube, F.W. Mohr and S. Dhein, *Gender-specific remodeling in atrial fibrillation?* Thorac Cardiovasc Surg, 2013. **61**(1): p. 66-73.

373. Kemp, B.E. and R.B. Pearson, *Protein kinase recognition sequence motifs*. Trends Biochem Sci, 1990. **15**(9): p. 342-6.
374. Kennelly, P.J. and E.G. Krebs, *Consensus sequences as substrate specificity determinants for protein kinases and protein phosphatases*. J Biol Chem, 1991. **266**(24): p. 15555-8.
375. Sun, H., D. Chartier, N. Leblanc and S. Nattel, *Intracellular calcium changes and tachycardia-induced contractile dysfunction in canine atrial myocytes*. Cardiovasc Res, 2001. **49**(4): p. 751-61.
376. Ohkusa, T., T. Ueyama, J. Yamada, M. Yano, Y. Fujumura, K. Esato and M. Matsuzaki, *Alterations in cardiac sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ regulatory proteins in the atrial tissue of patients with chronic atrial fibrillation*. J Am Coll Cardiol, 1999. **34**(1): p. 255-63.
377. Lai, L.P., M.J. Su, J.L. Lin, F.Y. Lin, C.H. Tsai, Y.S. Chen, S.K. Huang, Y.Z. Tseng and W.P. Lien, *Down-regulation of L-type calcium channel and sarcoplasmic reticular Ca(2+)-ATPase mRNA in human atrial fibrillation without significant change in the mRNA of ryanodine receptor, calsequestrin and phospholamban: an insight into the mechanism of atrial electrical remodeling*. J Am Coll Cardiol, 1999. **33**(5): p. 1231-7.
378. Black, I.W., D. Fatkin, K.B. Sagar, B.K. Khandheria, D.Y. Leung, J.M. Galloway, M.P. Feneley, W.F. Walsh, R.A. Grimm, C. Stollberger, and et al., *Exclusion of atrial thrombus by transesophageal echocardiography does not preclude embolism after cardioversion of atrial fibrillation. A multicenter study*. Circulation, 1994. **89**(6): p. 2509-13.
379. Zhang, L., Y. Hou and S.S. Po, *Obstructive Sleep Apnoea and Atrial Fibrillation*. Arrhythm Electrophysiol Rev, 2015. **4**(1): p. 14-8.
380. Linz, D., U. Schotten, H.R. Neuberger, M. Bohm and K. Wirth, *Negative tracheal pressure during obstructive respiratory events promotes atrial fibrillation by vagal activation*. Heart Rhythm, 2011. **8**(9): p. 1436-43.
381. Ghias, M., B.J. Scherlag, Z. Lu, G. Niu, A. Moers, W.M. Jackman, R. Lazzara and S.S. Po, *The role of ganglionated plexi in apnea-related atrial fibrillation*. J Am Coll Cardiol, 2009. **54**(22): p. 2075-83.

382. Kohama, Y., N. Okimoto, T. Mimura, C. Fukaya, M. Watanabe and K. Yokoyama, *A new antiarrhythmic peptide, N-3-(4-hydroxyphenyl)propionyl Pro-Hyp-Gly-Ala-Gly*. Chem Pharm Bull (Tokyo), 1987. **35**(9): p. 3928-30.
383. Dhein, S., *Peptides acting at gap junctions*. Peptides, 2002. **23**(9): p. 1701-9.
384. Kjolbye, A.L., N.H. Holstein-Rathlou and J.S. Petersen, *Anti-arrhythmic peptide N-3-(4-hydroxyphenyl)propionyl Pro-Hyp-Gly-Ala-Gly-OH reduces dispersion of action potential duration during ischemia/reperfusion in rabbit hearts*. J Cardiovasc Pharmacol, 2002. **40**(5): p. 770-9.
385. Verma, V., B.D. Larsen, W. Coombs, X. Lin, E. Sarrou, S.M. Taffet and M. Delmar, *Design and characterization of the first peptidomimetic molecule that prevents acidification-induced closure of cardiac gap junctions*. Heart Rhythm, 2010. **7**(10): p. 1491-8.
386. Haugan, K., T. Miyamoto, Y. Takeishi, I. Kubota, J. Nakayama, H. Shimojo and M. Hirose, *Rotigaptide (ZP123) improves atrial conduction slowing in chronic volume overload-induced dilated atria*. Basic Clin Pharmacol Toxicol, 2006. **99**(1): p. 71-9.
387. Guerra, J.M., T.H.t. Everett, K.W. Lee, E. Wilson and J.E. Olgin, *Effects of the gap junction modifier rotigaptide (ZP123) on atrial conduction and vulnerability to atrial fibrillation*. Circulation, 2006. **114**(2): p. 110-8.
388. Jozwiak, J. and S. Dhein, *Local effects and mechanisms of antiarrhythmic peptide AAP10 in acute regional myocardial ischemia: electrophysiological and molecular findings*. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 2008. **378**(5): p. 459-70.
389. Axelsen, L.N., M. Stahlhut, S. Mohammed, B.D. Larsen, M.S. Nielsen, N.H. Holstein-Rathlou, S. Andersen, O.N. Jensen, J.K. Hennen and A.L. Kjolbye, *Identification of ischemia-regulated phosphorylation sites in connexin43: A possible target for the antiarrhythmic peptide analogue rotigaptide (ZP123)*. J Mol Cell Cardiol, 2006. **40**(6): p. 790-8.
390. Hagen, A., A. Dietze and S. Dhein, *Human cardiac gap-junction coupling: effects of antiarrhythmic peptide AAP10*. Cardiovasc Res, 2009. **83**(2): p. 405-15.
391. Teunissen, B.E., H.J. Jongasma and M.F. Bierhuizen, *Regulation of myocardial connexins during hypertrophic remodelling*. Eur Heart J, 2004. **25**(22): p. 1979-89.

392. Shiroshita-Takeshita, A., M. Sakabe, K. Haugan, J.K. Hennen and S. Nattel, *Model-dependent effects of the gap junction conduction-enhancing antiarrhythmic peptide rotigaptide (ZP123) on experimental atrial fibrillation in dogs*. *Circulation*, 2007. **115**(3): p. 310-8.
393. Clarke, T.C., D. Thomas, J.S. Petersen, W.H. Evans and P.E. Martin, *The antiarrhythmic peptide rotigaptide (ZP123) increases gap junction intercellular communication in cardiac myocytes and HeLa cells expressing connexin 43*. *Br J Pharmacol*, 2006. **147**(5): p. 486-95.
394. Sankaranarayanan, R., G. Kirkwood, K. Dibb and C.J. Garratt, *Comparison of Atrial Fibrillation in the Young versus That in the Elderly: A Review*. *Cardiol Res Pract*, 2013. **2013**: p. 976976.
395. Wongcharoen, W., Y.C. Chen, Y.J. Chen, S.Y. Chen, H.I. Yeh, C.I. Lin and S.A. Chen, *Aging increases pulmonary veins arrhythmogenesis and susceptibility to calcium regulation agents*. *Heart Rhythm*, 2007. **4**(10): p. 1338-49.
396. Anyukhovskiy, E.P., E.A. Sosunov, A. Plotnikov, R.Z. Gainullin, J.S. Jhang, C.C. Marboe and M.R. Rosen, *Cellular electrophysiologic properties of old canine atria provide a substrate for arrhythmogenesis*. *Cardiovasc Res*, 2002. **54**(2): p. 462-9.
397. Dun, W., T. Yagi, M.R. Rosen and P.A. Boyden, *Calcium and potassium currents in cells from adult and aged canine right atria*. *Cardiovasc Res*, 2003. **58**(3): p. 526-34.
398. Su, N., J. Duan, M.P. Moffat and N. Narayanan, *Age-related changes in electrophysiological responses to muscarinic receptor stimulation in rat myocardium*. *Can J Physiol Pharmacol*, 1995. **73**(10): p. 1430-6.
399. Kistler, P.M., P. Sanders, S.P. Fynn, I.H. Stevenson, S.J. Spence, J.K. Vohra, P.B. Sparks and J.M. Kalman, *Electrophysiologic and electroanatomic changes in the human atrium associated with age*. *J Am Coll Cardiol*, 2004. **44**(1): p. 109-16.
400. Kojodjojo, P., P. Kanagaratnam, V. Markides, D.W. Davies and N. Peters, *Age-related changes in human left and right atrial conduction*. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 2006. **17**(2): p. 120-7.
401. Kanagaratnam, P., A. Cherian, R.D. Stanbridge, B. Glenville, N.J. Severs and N.S. Peters, *Relationship between connexins and atrial activation during human atrial fibrillation*. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 2004. **15**(2): p. 206-16.

402. Jones, S.A., M.K. Lancaster and M.R. Boyett, *Ageing-related changes of connexins and conduction within the sinoatrial node*. J Physiol, 2004. **560**(Pt 2): p. 429-37.
403. Olshansky, B. and R. Sullivan, *Increased prevalence of atrial fibrillation in the endurance athlete: potential mechanisms and sport specificity*. Phys Sportsmed, 2014. **42**(1): p. 45-51.
404. Kolwicz, S.C., S.M. MacDonnell, B.F. Renna, P.O. Reger, R. Seqqat, K. Rafiq, Z.V. Kendrick, S.R. Houser, A. Sabri and J.R. Libonati, *Left ventricular remodeling with exercise in hypertension*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2009. **297**(4): p. H1361-8.
405. Libonati, J.R., *Cardiac remodeling and function following exercise and angiotensin II receptor antagonism*. Eur J Appl Physiol, 2012. **112**(8): p. 3149-54.
406. Malhotra, R., J. Sadoshima, F.C. Brosius, 3rd and S. Izumo, *Mechanical stretch and angiotensin II differentially upregulate the renin-angiotensin system in cardiac myocytes In vitro*. Circ Res, 1999. **85**(2): p. 137-46.
407. Miyata, S., T. Haneda, J. Osaki and K. Kikuchi, *Renin-angiotensin system in stretch-induced hypertrophy of cultured neonatal rat heart cells*. Eur J Pharmacol, 1996. **307**(1): p. 81-8.
408. Sadoshima, J., Y. Xu, H.S. Slayter and S. Izumo, *Autocrine release of angiotensin II mediates stretch-induced hypertrophy of cardiac myocytes in vitro*. Cell, 1993. **75**(5): p. 977-84.
409. Yasuda, N., S. Miura, H. Akazawa, T. Tanaka, Y. Qin, Y. Kiya, S. Imaizumi, M. Fujino, K. Ito, Y. Zou, S. Fukuhara, S. Kunimoto, K. Fukuzaki, T. Sato, J. Ge, N. Mochizuki, H. Nakaya, K. Saku, and I. Komuro, *Conformational switch of angiotensin II type I receptor underlying mechanical stress-induced activation*. EMBO Rep, 2008. **9**(2): p. 179-86.
410. Barauna, V.G., F.C. Magalhaes, J.E. Krieger and E.M. Oliveira, *AT1 receptor participates in the cardiac hypertrophy induced by resistance training in rats*. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2008. **295**(2): p. R381-7.
411. Maceira, A.M., J. Cosin-Sales, M. Roughton, S.K. Prasad and D.J. Pennell, *Reference left atrial dimensions and volumes by steady state free precession cardiovascular magnetic resonance*. J Cardiovasc Magn Reson, 2010. **12**: p. 65.

412. Maceira, A.M., J. Cosin-Sales, M. Roughton, S.K. Prasad and D.J. Pennell, *Reference right atrial dimensions and volume estimation by steady state free precession cardiovascular magnetic resonance*. J Cardiovasc Magn Reson, 2013. **15**: p. 29.
413. Hudsmith, L.E., S.E. Petersen, J.M. Francis, M.D. Robson and S. Neubauer, *Normal human left and right ventricular and left atrial dimensions using steady state free precession magnetic resonance imaging*. J Cardiovasc Magn Reson, 2005. **7**(5): p. 775-82.
414. Okumura, Y., I. Watanabe, K. Ohkubo, S. Ashino, M. Kofune, K. Hashimoto, A. Shindo, H. Sugimura, T. Nakai, Y. Kasamaki, and S. Saito, *Prediction of the efficacy of pulmonary vein isolation for the treatment of atrial fibrillation by the signal-averaged P-wave duration*. Pacing Clin Electrophysiol, 2007. **30**(3): p. 304-13.
415. Blenck, C.L., P.A. Harvey, J.F. Reckelhoff and L.A. Leinwand, *The Importance of Biological Sex and Estrogen in Rodent Models of Cardiovascular Health and Disease*. Circ Res, 2016. **118**(8): p. 1294-312.
416. Mendelsohn, M.E. and R.H. Karas, *Molecular and cellular basis of cardiovascular gender differences*. Science, 2005. **308**(5728): p. 1583-7.
417. Barkhem, T., S. Nilsson and J.A. Gustafsson, *Molecular mechanisms, physiological consequences and pharmacological implications of estrogen receptor action*. Am J Pharmacogenomics, 2004. **4**(1): p. 19-28.
418. Babiker, F.A., L.J. De Windt, M. van Eickels, C. Grohe, R. Meyer and P.A. Doevendans, *Estrogenic hormone action in the heart: regulatory network and function*. Cardiovasc Res, 2002. **53**(3): p. 709-19.
419. Lagranha, C.J., A. Deschamps, A. Aponte, C. Steenbergen and E. Murphy, *Sex differences in the phosphorylation of mitochondrial proteins result in reduced production of reactive oxygen species and cardioprotection in females*. Circ Res, 2010. **106**(11): p. 1681-91.
420. Reckelhoff, J.F., *Cardiovascular disease, estrogen deficiency, and inflammatory cytokines*. Hypertension, 2006. **48**(3): p. 372-3.
421. Xing, D., S. Nozell, Y.F. Chen, F. Hage and S. Oparil, *Estrogen and mechanisms of vascular protection*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2009. **29**(3): p. 289-95.

422. Mendelsohn, M.E., *Protective effects of estrogen on the cardiovascular system*. Am J Cardiol, 2002. **89**(12A): p. 12E-17E; discussion 17E-18E.
423. Mendelsohn, M.E. and R.H. Karas, *The protective effects of estrogen on the cardiovascular system*. N Engl J Med, 1999. **340**(23): p. 1801-11.
424. Gardner, J.D., D.B. Murray, T.G. Voloshenyuk, G.L. Brower, J.M. Bradley and J.S. Janicki, *Estrogen attenuates chronic volume overload induced structural and functional remodeling in male rat hearts*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2010. **298**(2): p. H497-504.
425. Cavasin, M.A., Z.Y. Tao, A.L. Yu and X.P. Yang, *Testosterone enhances early cardiac remodeling after myocardial infarction, causing rupture and degrading cardiac function*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2006. **290**(5): p. H2043-50.
426. Hodis, H.N., *Assessing benefits and risks of hormone therapy in 2008: new evidence, especially with regard to the heart*. Cleve Clin J Med, 2008. **75 Suppl 4**: p. S3-12.
427. Schnatz, P.F., *Hormonal therapy: does it increase or decrease cardiovascular risk?* Obstet Gynecol Surv, 2006. **61**(10): p. 673-81.

**Sex differences in cardiac electrophysiology and clinical arrhythmias:
Epidemiology, therapeutics and mechanisms**

Rafik Tadros MD PhD,^{a,b*} Anh-Tuan Ton MSc,^{a,c*} Céline Fiset, PhD,^{a,c+}
Stanley Nattel, MD^{a,b+}

^aResearch Center, Montreal Heart Institute and Université de Montréal, Montreal, Quebec, Canada

^bDepartment of Medicine, Montreal Heart Institute and Université de Montréal, Montreal, Quebec, Canada

^cFaculty of Pharmacy, Université de Montréal, Montréal, Quebec, Canada

*These authors contributed equally to this paper and share first authorship.

⁺Share senior authorship.

Short title: Sex differences in arrhythmias

Word count: 6231

Corresponding author: Stanley Nattel, MD, Montreal Heart Institute, 5000 Belanger E, Montreal, Quebec, Canada, H1T 1C8. Tel: +1514-376-3330 ext 3990. Fax: +1514-593-2493

Brief Summary

There are clear sex-differences in clinical electrophysiology and arrhythmia-risk. Women are at greater risk of sick-sinus syndrome, AV-node reentrant tachycardia and long-QT syndrome; men manifest more AV-block, accessory pathway-mediated arrhythmias and early repolarization syndromes. Great advances have been made in unravelling fundamental mechanisms underlying sex-differences in ventricular arrhythmias, whereas the basis for other differences are poorly understood. Here, we review the nature and underlying mechanisms of sex differences in basic electrophysiology and clinical arrhythmias.

Abstract

Sex-differences in cardiac electrophysiological properties and arrhythmia differences are evident in epidemiological and investigative studies, as well as in daily patient care. At the supraventricular level, women are at increased risk of sick sinus syndrome and atrioventricular nodal reentrant tachycardia, while men manifest more atrioventricular block and accessory pathway-mediated arrhythmias. At the ventricular level, women are generally at higher risk of long-QT associated arrhythmias, whereas men are more likely to present early repolarization, idiopathic ventricular fibrillation and Brugada syndromes. Great advances have been made in unravelling the fundamental mechanisms underlying sex-differences in ventricular arrhythmias, particularly those associated with abnormal repolarization. On the other hand, the basis for male-predominant arrhythmic risk in structural heart disease and differences in supraventricular arrhythmia susceptibility are poorly understood. Beyond biological differences, arrhythmia occurrence and patient care decisions are also influenced by gender-related factors. This paper reviews the current knowledge regarding the nature and underlying mechanisms of sex differences in basic cardiac electrophysiology and clinical arrhythmias.

Introduction

In 1920, Bazett reported that women have longer QT intervals despite faster heart rates.¹ While epidemiological studies on sex differences in clinical arrhythmia have abounded, human data on basic electrophysiological dissimilarities between men and women remain sparse. Animal models have served to evaluate the basic sex differences in electrophysiological function and recent human studies confirm many of these concepts. This review summarizes our current knowledge of sex differences in clinical arrhythmia and their management, and also outlines mechanistic insights from both animal and human studies, highlighting areas of knowledge gaps.

Sex differences in normal electrophysiology: clinical aspects and animal models

Please note that by accepted convention the term “sex” refers to biologically determined differences, whereas “gender” refers to socially/culturally-derived distinctions between males and females. We follow these usages in our presentation. Men and women differ in normal electrophysiology of their specialized conduction system and working myocardium (Figure 1).

Specialized electrical system

Women have greater sinoatrial node (SAN) automaticity, with a shorter sinus cycle length (faster heart rate) and shorter corrected SAN recovery time.² Burke et al.³ showed that sex-dependent SAN differences persist after autonomic blockade. They also demonstrated that apparent sex differences in exercise heart rate depend on differences in exercise capacity rather than intrinsic sex differences. Heart rates also increase during pregnancy. In a murine model, pregnancy increases pacemaker current (I_f) density by increasing HCN2-subunit protein expression.⁴

Compared to men, women also have enhanced atrioventricular (AV) nodal function as evidenced by shorter PR and AH intervals, AV nodal effective refractory period and Wenckebach cycle length.⁵ They also have smaller HV intervals and QRS durations.^{2,5} These differences in AV nodal and His-Purkinje function persist after autonomic blockade.⁶ The mechanism of sex differences in AV conduction is unknown.

Atrial electrophysiology

Sex differences in atrial electrophysiology are less clear. Human data are inconsistent and animal studies are sparse. Men seem to have longer P wave duration⁷ and refractory period, although the latter observation is inconsistent among studies.^{2,8}

Ventricular repolarization

Sex differences in ventricular repolarization have been extensively studied.⁹ Women have longer QT and corrected QT (QTc) intervals,¹ independent of autonomic modulation.¹⁰ Males are more likely to show early repolarization, J-point elevation and larger ST-slopes.¹¹ Sex differences in repolarization are not observed in prepubertal children.¹¹ At puberty, males manifest QTc shortening, while females maintain or slightly increase their QTc, observations consistent with hormone-mediated differences. Various animal models (Table 1) show that sex differences in ventricular repolarization involve effects of sex hormones, both via expression differences for ion-channel subunits (genomic effects) and channel-function modulation (non-genomic effects).⁹

The QT interval is determined by ventricular cardiomyocyte action potential duration (APD). Longer APDs could result from smaller outward K^+ -currents or larger inward Na^+ or Ca^{2+} -currents. Male mice have larger ultrarapid delayed-rectifier K^+ -current (I_{Kur}) and expression of the underlying α -subunit, Kv1.5.¹² Orchiectomized mice have smaller ventricular I_{Kur} and Kv1.5 and prolonged APD/QTc-interval; I_{Kur} is restored upon administration of androgens.¹³ In canine models, testosterone increases inward-rectifier (I_{K1}) and transient-outward (I_{to}) K^+ -currents, along with Kir2.1 and Kv4.3-subunit expression respectively, while estrogen decreases them in males.¹⁴ Male-female differences are transmurally-distributed in dogs, with smaller I_{to} in female endocardium and larger inward L-type Ca^{2+} -current (I_{CaL}) in females, reducing repolarization reserve.¹⁵ Low-dose testosterone acutely reduces APD in guinea pigs via enhancement of I_{Ks} , whereas high-dose testosterone shortens APD by increasing I_{Ks} and reducing I_{CaL} .¹⁶ In general agreement with animal studies, human data show that female ventricles express a variety of K^+ -channel subunits less strongly than male ventricles.¹⁷

Women show cyclic variations in QTc, with QTc longer in the follicular than the luteal phase, after autonomic blockade.¹⁰ These are due to large changes in progesterone and estrogen plasma concentrations during the ovarian cycle (Figure 2), which alter ion-currents through non-genomic effects.^{18,19} progesterone increases, while estrogen decreases, repolarizing currents. Thus, increased estrogen/progesterone ratios during the follicular phase decreases repolarizing currents, prolonging APD and QTc.

Supraventricular arrhythmias

Supraventricular tachycardias

The sex-dependence of paroxysmal supraventricular tachycardias (SVT) varies with arrhythmia-type (Figure 3).²⁰ Women are more likely than men to have AV-nodal (AVN) reentrant tachycardia (AVNRT) and focal atrial tachycardia.²¹ Men have double the incidence of accessory-pathway tachycardias²¹ as well as asymptomatic pre-excitation.²² Sex affects pathway location, females having more right-sided pathways.^{22,23} The small risk of ventricular fibrillation (VF) in patients with ventricular preexcitation seems independent of sex.²⁴

Premenopausal women show cyclic variations in SVT burden, with more frequent and longer episodes in the luteal phase, corresponding to shorter APDs.²⁵ The number of episodes correlates positively with progesterone levels and negatively with estrogen levels. In women with cyclic SVT and a negative EP study at mid-cycle, repeating the EP study at end-cycle or after exogenous estrogen withdrawal may increase inducibility and ablation-success for SVT.²⁶

The basis for sex differences in SVT are largely unknown. Dual AVN-pathway physiology is similarly prevalent in males and females.⁵ Female predominance in AVNRT rather reflects shorter slow-pathway ERP, with a wider vulnerability-window.²⁷ Reduced AVNRT-recurrence rates during high-estrogen states probably relates to APD-prolonging effect of estrogen in humans.²⁸

Gender-related factors affect therapeutic decision-making in SVT. Although the efficacy and safety of catheter ablation of SVT is similar in men and women, the latter are referred for invasive therapy later than men despite having more symptoms.²⁹ This referral delay in women

likely reflects gender-related bias in therapy as well as delayed diagnosis; women with SVT are more likely to have a diagnosis of panic attacks prior to arrhythmia documentation.³⁰

Atrial fibrillation

Sex differences in prevalence, outcomes and clinical therapeutics of atrial fibrillation (AF) were recently reviewed.³¹ Men have a 1.5-fold greater risk than women of developing AF.³² Because of the longer longevity of women, and since advancing age is the single most important risk factor, females account for half of the overall AF population.³³ Advancing age, diabetes, hypertension and heart failure increase AF-risk similarly in men and women, but valve disease increases AF-risk more in women than men (RR 3.4 vs. 1.8).³²

Although AF-incidence is lower in women, they are at higher risk of AF-related complications like stroke and death,³⁴ although this has been challenged by recent cohort studies. In a population-based Quebec cohort study of >65-year old AF-patients, female sex was an independent predictor of stroke.³⁵ However, sex was not a predictor for patients aged 65-75. Studies in other populations reproduced these findings.^{36,37} These data suggest that female sex is a predictor of stroke only in the presence of other risk factors like older age.

Women have higher recurrence-rates after electrical cardioversion³⁸ and more complications with pharmacological rhythm-control versus rate-control.³⁹ They are at higher risk of drug-induced Torsades de Pointes (TdP)⁴⁰ and are also more likely to require pacemakers with amiodarone-use.⁴¹ Women with AF have worse quality of life than men,⁴² regardless of treatment strategy.³⁹

Several studies assessed the effect of sex on outcomes and complications after AF-ablation.⁴³ In an Italian cohort study,⁴⁴ women referred for ablation were older, had longer history of AF, higher prevalence of hypertension and larger left atria. Despite these differences, freedom from AF after ablation was similar. In contrast, in a much larger US cohort with similar baseline sex differences,⁴⁵ freedom from AF post-ablation was significantly less for women. Women also had a much higher prevalence of non pulmonary-vein (PV) sources (50%, vs. 16% in men). Whether a lower success rate for AF-ablation in women is due to delayed therapy and/or

mechanistic differences warrants further study. Of note, women also have higher complication-rates following AF-ablation.^{45,46}

While significant advancements in understanding clinically-relevant AF-mechanisms have been made in the past decade,⁴⁷ few mechanistic studies addressed sex differences in atrial electrophysiology and AF. Tsai et al.⁴⁸ reported that male rodent PV-myocytes have greater spontaneous beating-rates, more burst-firing and larger isoproterenol-induced delayed afterdepolarizations (DADs). Male left-atrial cardiomyocytes also have greater late Na⁺-current and Ca²⁺-content, which may explain larger DADs and more frequent triggered activity.⁴⁹ Ambrosi et al.⁵⁰ observed sex differences in ion-channel gene-expression, with males having stronger expression of K⁺-channel subunits (Kv4.3, KChIP2, Kv1.5 and Kir3.1) and a trend towards greater expression of Nav1.5 and Cav1.2. A human study showed that women have greater AF-induced increases in connexin (Cx)-40 expression than men.⁵¹ How sex differences in genomic expression of various ion channels renders men at higher risk of AF and whether non-genomic differences also exist remains to be studied.

Bradyarrhythmias

Women are more likely to have sick sinus syndrome (SSS) but less likely to have AV-block.⁵² The underlying mechanisms of these differences are unknown. Women are less likely to benefit from dual-chamber pacemaker implantation,⁵²⁻⁵⁴ are more likely to have procedural complications such as pneumothoraxes (OR 2.1) and pocket hematomas (OR 1.5),⁵² but have better overall survival-rates.^{55,56}

Ventricular arrhythmia in structurally-normal hearts

Drug-induced long-QT and TdP

The most common molecular mechanism of drug-induced long-QT syndrome (LQTS) is blockade of hERG (Kv11.1), the α -subunit of the rapid delayed-rectifier K⁺-current (I_{Kr}).⁵⁷ Women have greater risk of drug-induced LQTS/TdP.^{58,59} The causes are multifactorial. First, females show lower-level expression of HERG and other K⁺-channel subunits like minK (β -subunit of slow delayed-rectifier, I_{Ks}); thus, lower repolarization reserve.¹⁷ Second, females show estrogen-dependent upregulation of Na⁺-Ca²⁺-exchanger and I_{CaL}, which favour early

afterdepolarizations (EADs) and TdP.⁶⁰ Although baseline QTc shows little variation along the menstrual cycle, women have greater QTc-prolongation with ibutilide during menses and ovulation compared to luteal phase.⁶¹ QTc-prolongation during luteal phase is identical to men.

Congenital long QT syndrome

Sex is also a strong modulator of arrhythmic risk in congenital LQTS. Sex-differences are age-dependent: prepubertal males have greater risk of arrhythmic events than their female counterparts, while females are at greater risk after puberty, in association with longer QT-intervals.⁶² Risk also depends on genotype,^{63,64} as discussed below.

LQTS Type 1 (LQT1) is caused by heterozygous loss of function mutation in *KCNQ1*, the gene encoding the α -subunit of I_{Ks} . In childhood, although male QTc-intervals are identical to females, males have greater risk of cardiac arrest (HR 2.3).⁶⁵ Both I_{Ks} and I_{CaL} are enhanced comparably by adrenergic stimulation; I_{Ks} -enhancement prevents excess APD-prolongation/EADs due to I_{CaL} -augmentation.⁶⁶ Thus, arrhythmic events in LQT1 typically occur in adrenergic contexts like exercise. Boys may therefore have higher risk of LQT1-arrhythmia because of more vigorous physical activity rather than primary electrophysiological susceptibility. After puberty, when QTc-intervals decrease in males but remain unchanged in females, cardiac-arrest risk equalizes in men and women.⁶⁵

LQT2 is caused by loss of function mutation in *KCNH2*, which encodes the α -subunit of I_{Kr} . In prepubertal children, both QTc and risk of cardiac arrest in males and females are identical.^{63,67} Following puberty, QTc prolongation is observed in females while males have a non-significant shortening,⁶³ leading to a 2.3-fold risk of cardiac arrest in adult LQT2-females versus males.⁶⁷

Sex-differences in arrhythmic risk in LQT3, due to inadequate I_{Na} -inactivation, is debated. One study found no sex-differences in arrhythmic risk,⁶³ while another suggested greater event-rates in males with LQT3.⁶⁴

While some experts advocate sex-dependent phenotype and genotype risk-stratification schemes,⁶⁸ recent guidelines do not recommend specifically this approach.⁶⁹

Brugada syndrome

The male-predominant risk of Brugada syndrome is so apparent that men in some southeastern Asian villages dressed in women's clothes to deceive evil spirits from taking young men's lives during their sleep.⁷⁰

Males with Brugada syndrome have a higher rate of spontaneous type-1 ECG, and are more likely to experience VF or sudden cardiac death (SCD) during follow-up.⁷⁰ The mechanism of arrhythmia in Brugada syndrome is uncertain, but accelerated epicardial repolarization involving predominance of I_{to} over inward currents like I_{Na} is central to one common theory of pathogenesis.⁷¹ A loss-of-function mutation in *SCN5A*, encoding the I_{Na} α -subunit, is identified in about 1/3 of cases. Molecular data from non-diseased human hearts are in agreement with the concept that male predominance of the Brugada phenotype results from higher I_{to} . Compared to males, females have 39%-less expression of KChIP2, the main accessory subunit of I_{to} , in right-ventricular (RV) epicardium.¹⁷

Idiopathic VF and early repolarization syndromes

Male sex is strongly associated with early repolarization (ER), both the benign form and when associated with VF in the early-repolarization syndrome (ERS).^{72,73} Idiopathic VF is also predominant in males, who represent 2/3 of the cases.⁷⁴ Both ER and ERS in males are due to a greater transmural gradient in early repolarization.⁷³ The major reason for this transmural gradient is the higher density of I_{to} in male ventricular epicardium, which results in a larger notch in epicardial action potentials. Larger I_{to} is caused by greater expression of its β -subunit KChIP2 in men.¹⁷ Mechanistic and clinical similarities in Brugada and ER prompted some authors to group them as J-wave syndromes, which are clearly more manifest in males.⁷⁵

Sex differences in idiopathic VF without ER are less clear. Males comprise 72% of patients with VF and ER (ERS) but only about 54% of patients with VF without ER ($P=0.007$).⁷² This might suggest that males have a higher incidence of ERS but not "true" idiopathic VF (i.e. when excluding ERS). A Dutch study⁷⁶ on familial VF is in discordance. In this study, which identified a haplotype associated with familial idiopathic VF, early repolarization was only

present in 6% of risk-haplotype carriers but males still had a higher event rate than females (45% vs. 21%). This haplotype results in DPP6 overexpression, which appears to cause a Purkinje fiber-delimited ERS.⁷⁷

Other primary electrical diseases

Catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia (CPVT) is an inherited arrhythmic syndrome causing VT during exercise or stress. In the largest cohort studying risk factors of cardiac events in CPVT, sex was not a predictor of events.⁷⁸ In the rare short QT syndrome (SQT), males comprise up to 80% of subjects, consistent with a background of rapid repolarization in males (Figure 4).¹⁷ Risk of arrhythmic events in those fulfilling diagnostic criteria (i.e. with short QT) is independent of sex.⁷⁹

Focal idiopathic ventricular tachycardias

Focal idiopathic VT represent about 10% of VTs.⁸⁰ These occur in structurally normal hearts, but unlike VTs related to defined channelopathies, idiopathic VTs are generally of focal origin. Adenosine-sensitive RV outflow-tract tachycardias are more common in females, although LV outflow-tract VT is observed equally in males and females.⁸¹ The basis for the RV versus LV difference in sex-dominance is unclear. Perhaps paradoxically, hormone replacement therapy in menopausal women seems to reduce outflow-tract VT burden.⁸²

Verapamil-sensitive fascicular tachycardia is three times more common in males.⁸¹ These tachycardias are thought to be caused by reentry involving the posteroseptal LV myocardium and Purkinje network.⁸⁰ Possible explanations for male predominance are shorter Purkinje-cell APD⁸³ and slower His-Purkinje conduction⁵ which favour reentry. No data are available regarding sex-dependence of ion-channel expression in human Purkinje fibers.

Ventricular arrhythmia in structural heart disease

Coronary artery disease and heart failure

SCD-rates in women are less than half those in men.⁸⁴ While age-dependence is qualitatively similar, comparable SCD-incidences occur 10 years later in women. Lower SCD-risk in women is not completely due to lesser coronary artery disease (CAD): women still have significantly

lower SCD-rates after controlling for effects of CAD or heart failure.⁸⁴ Consistent with primary electrical factors, women with CAD and LV ejection-fraction \leq 40% are also less likely than men to have inducible sustained VT.⁸⁵

Prevention of SCD has been shown with beta-blockers and implantable cardioverter defibrillators (ICDs) in specific populations.^{86,87} Although beta-blockers similarly reduce mortality in men and women post-myocardial infarction,⁸⁶ the mortality benefits of ICDs are less evident in women than men. In a metaanalysis including 5 major trials women (who represented only 21% of the study-population) had significantly fewer appropriate ICD-therapies (HR 0.63; Figure 5).⁸⁷ Observational data parallel those of clinical trials: among ICD-recipients, women have fewer appropriate therapies, similar rates of inappropriate therapies and comparable overall mortality to men.^{88,89} These results suggest that women with LV systolic dysfunction have lower arrhythmic mortality, but similar non-arrhythmic mortality, compared to men.⁹⁰ Current guidelines do not recommend considering sex in ICD implantation decision-making, but women are less likely to receive guideline-recommended ICDs.⁹¹ The mechanistic basis for sex-related differences in arrhythmia-rates with acquired heart-disease are largely unknown.

Inherited cardiomyopathies

In hypertrophic cardiomyopathy, male sex is a predictor for appropriate ICD shock.^{92,93} Males are overrepresented in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy for unclear reasons, while arrhythmic risk and overall prognosis is similar in males and females.⁹⁴

Congenital heart disease

Men with congenital heart disease are twice as likely as women to receive an ICD.⁹⁵ Although men tend to have more supraventricular arrhythmias, documented ventricular-arrhythmia rates are similar among males and females, suggesting that lower ICD implant-rates in women may be related to gender bias.^{91,95} In repaired tetralogy of Fallot, sex does not predict arrhythmia rates.⁹⁶ Similarly, sex does not predict appropriate ICD-shock in patients with atrial-switch procedures for transposition of the great vessels.⁹⁷

Conclusions

While we have a reasonable understanding of mechanisms underlying sex differences in rare channelopathies and arrhythmias due to repolarization-abnormalities, we still have much to learn about the nature and basis of sex-related differences in more common, yet more complex, arrhythmias. Therapeutic decisions are modulated by sex, but how much of the modulation is evidence-based versus a reflection of bias is unclear. Much more must be known before sex can be used appropriately to base therapeutic decision-making on differential responses to pharmacological and invasive treatments. A better knowledge of sex differences in cardiac arrhythmia mechanisms, determinants and therapeutic response is clearly needed to improve patient care.

Acknowledgments

The authors thank France Thériault for expert secretarial help with the manuscript.

Funding sources

Canadian Institutes of Health awards 68929 and 44365 (SN) and 64344 (CF).

Disclosures

None.

References

1. Bazett H. An analysis of the time-relations of electrocardiograms. *Heart* 1920;7:353-70.
2. Taneja T, Mahnert BW, Passman R, Goldberger J, Kadish A. Effects of sex and age on electrocardiographic and cardiac electrophysiological properties in adults. *Pacing Clin Electrophysiol* 2001;24:16-21.
3. Burke JH, Goldberger JJ, Ehlert FA, Kruse JT, Parker MA, Kadish AH. Gender differences in heart rate before and after autonomic blockade: evidence against an intrinsic gender effect. *Am J Med* 1996;100:537-43.
4. El Khoury N, Mathieu S, Marger L, et al. Upregulation of the hyperpolarization-activated current increases pacemaker activity of the sinoatrial node and heart rate during pregnancy in mice. *Circulation* 2013;127:2009-20.
5. Liu S, Yuan S, Kongstad O, Olsson SB. Gender differences in the electrophysiological characteristics of atrioventricular conduction system and their clinical implications. *Scand Cardiovasc J* 2001;35:313-7.
6. Insulander P, Vallin H. Gender differences in electrophysiologic effects of mental stress and autonomic tone inhibition: a study in health individuals. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2005;16:59-63.
7. Dhala A, Underwood D, Leman R, et al. Signal-averaged P-wave analysis of normal controls and patients with paroxysmal atrial fibrillation: a study in gender differences, age dependence, and reproducibility. *Clin Cardiol* 2002;25:525-31.
8. Tse HF, Oral H, Pelosi F, Knight BP, Strickberger SA, Morady F. Effect of gender on atrial electrophysiologic changes induced by rapid atrial pacing and elevation of atrial pressure. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2001;12:986-9.
9. James AF, Choisy SC, Hancox JC. Recent advances in understanding sex differences in cardiac repolarization. *Prog Biophys Mol Biol* 2007;94:265-319.
10. Burke JH, Ehlert FA, Kruse JT, Parker MA, Goldberger JJ, Kadish AH. Gender-specific differences in the QT interval and the effect of autonomic tone and menstrual cycle in healthy adults. *Am J Cardiol* 1997;79:178-81.
11. Surawicz B, Parikh SR. Prevalence of male and female patterns of early ventricular repolarization in the normal ECG of males and females from childhood to old age. *J Am Coll Cardiol* 2002;40:1870-6.

12. Trepanier-Boulay V, St-Michel C, Tremblay A, Fiset C. Gender-based differences in cardiac repolarization in mouse ventricle. *Circ Res* 2001;89:437-44.
13. Brouillette J, Trepanier-Boulay V, Fiset C. Effect of androgen deficiency on mouse ventricular repolarization. *J Physiol* 2003;546:403-13.
14. Fulop L, Banyasz T, Szabo G, et al. Effects of sex hormones on ECG parameters and expression of cardiac ion channels in dogs. *Acta Physiol (Oxf)* 2006;188:163-71.
15. Xiao L, Zhang L, Han W, Wang Z, Nattel S. Sex-based transmural differences in cardiac repolarization and ionic-current properties in canine left ventricles. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006;291:H570-80.
16. Bai CX, Kurokawa J, Tamagawa M, Nakaya H, Furukawa T. Nontranscriptional regulation of cardiac repolarization currents by testosterone. *Circulation* 2005;112:1701-10.
17. Gaborit N, Varro A, Le Bouter S, et al. Gender-related differences in ion-channel and transporter subunit expression in non-diseased human hearts. *J Mol Cell Cardiol* 2010;49:639-46.
18. Kurokawa J, Tamagawa M, Harada N, et al. Acute effects of oestrogen on the guinea pig and human IKr channels and drug-induced prolongation of cardiac repolarization. *J Physiol* 2008;586:2961-73.
19. Nakamura H, Kurokawa J, Bai CX, et al. Progesterone regulates cardiac repolarization through a nongenomic pathway: an in vitro patch-clamp and computational modeling study. *Circulation* 2007;116:2913-22.
20. Porter MJ, Morton JB, Denman R, et al. Influence of age and gender on the mechanism of supraventricular tachycardia. *Heart Rhythm* 2004;1:393-6.
21. Rodriguez LM, de Chillou C, Schlapfer J, et al. Age at onset and gender of patients with different types of supraventricular tachycardias. *Am J Cardiol* 1992;70:1213-5.
22. Munger TM, Packer DL, Hammill SC, et al. A population study of the natural history of Wolff-Parkinson-White syndrome in Olmsted County, Minnesota, 1953-1989. *Circulation* 1993;87:866-73.
23. Hsu JC, Tanel RE, Lee BK, et al. Differences in accessory pathway location by sex and race. *Heart Rhythm* 2010;7:52-6.

24. Klein GJ, Bashore TM, Sellers TD, Pritchett EL, Smith WM, Gallagher JJ. Ventricular fibrillation in the Wolff-Parkinson-White syndrome. *N Engl J Med* 1979;301:1080-5.
25. Rosano GM, Leonardo F, Sarrel PM, Beale CM, De Luca F, Collins P. Cyclical variation in paroxysmal supraventricular tachycardia in women. *Lancet* 1996;347:786-8.
26. Myerburg RJ, Cox MM, Interian A, Jr., et al. Cycling of inducibility of paroxysmal supraventricular tachycardia in women and its implications for timing of electrophysiologic procedures. *Am J Cardiol* 1999;83:1049-54.
27. Liuba I, Jonsson A, Safstrom K, Walfridsson H. Gender-related differences in patients with atrioventricular nodal reentry tachycardia. *Am J Cardiol* 2006;97:384-8.
28. Rosano GM, Leonardo F, Dicandia C, et al. Acute electrophysiologic effect of estradiol 17beta in menopausal women. *Am J Cardiol* 2000;86:1385-7, A5-6.
29. Dagues N, Clague JR, Breithardt G, Borggreffe M. Significant gender-related differences in radiofrequency catheter ablation therapy. *J Am Coll Cardiol* 2003;42:1103-7.
30. Lessmeier TJ, Gamperling D, Johnson-Liddon V, et al. Unrecognized paroxysmal supraventricular tachycardia. Potential for misdiagnosis as panic disorder. *Arch Intern Med* 1997;157:537-43.
31. Michelena HI, Powell BD, Brady PA, Friedman PA, Ezekowitz MD. Gender in atrial fibrillation: Ten years later. *Gend Med* 2010;7:206-17.
32. Benjamin EJ, Levy D, Vaziri SM, D'Agostino RB, Belanger AJ, Wolf PA. Independent risk factors for atrial fibrillation in a population-based cohort. The Framingham Heart Study. *JAMA* 1994;271:840-4.
33. Feinberg WM, Blackshear JL, Laupacis A, Kronmal R, Hart RG. Prevalence, age distribution, and gender of patients with atrial fibrillation. Analysis and implications. *Arch Intern Med* 1995;155:469-73.
34. Friberg J, Scharling H, Gadsboll N, Truelsen T, Jensen GB. Comparison of the impact of atrial fibrillation on the risk of stroke and cardiovascular death in women versus men (The Copenhagen City Heart Study). *Am J Cardiol* 2004;94:889-94.
35. Avgil Tsadok M, Jackevicius CA, Rahme E, Humphries KH, Behlouli H, Pilote L. Sex differences in stroke risk among older patients with recently diagnosed atrial fibrillation. *JAMA* 2012;307:1952-8.

36. Mikkelsen AP, Lindhardsen J, Lip GY, Gislason GH, Torp-Pedersen C, Olesen JB. Female sex as a risk factor for stroke in atrial fibrillation: a nationwide cohort study. *J Thromb Haemost* 2012;10:1745-51.
37. Friberg L, Benson L, Rosenqvist M, Lip GY. Assessment of female sex as a risk factor in atrial fibrillation in Sweden: nationwide retrospective cohort study. *BMJ* 2012;344:e3522.
38. Gurevitz OT, Varadachari CJ, Ammash NM, et al. The effect of patient sex on recurrence of atrial fibrillation following successful direct current cardioversion. *Am Heart J* 2006;152:155 e9-13.
39. Rienstra M, Van Veldhuisen DJ, Hagens VE, et al. Gender-related differences in rhythm control treatment in persistent atrial fibrillation: data of the Rate Control Versus Electrical Cardioversion (RACE) study. *J Am Coll Cardiol* 2005;46:1298-306.
40. Wolbrette DL. Risk of proarrhythmia with class III antiarrhythmic agents: sex-based differences and other issues. *Am J Cardiol* 2003;91:39D-44D.
41. Essebag V, Reynolds MR, Hadjis T, et al. Sex differences in the relationship between amiodarone use and the need for permanent pacing in patients with atrial fibrillation. *Arch Intern Med* 2007;167:1648-53.
42. Paquette M, Roy D, Talajic M, et al. Role of gender and personality on quality-of-life impairment in intermittent atrial fibrillation. *Am J Cardiol* 2000;86:764-8.
43. Santangeli P, di Biase L, Pelargonio G, Natale A. Outcome of invasive electrophysiological procedures and gender: are males and females the same? *J Cardiovasc Electrophysiol* 2011;22:605-12.
44. Forleo GB, Tondo C, De Luca L, et al. Gender-related differences in catheter ablation of atrial fibrillation. *Europace* 2007;9:613-20.
45. Patel D, Mohanty P, Di Biase L, et al. Outcomes and complications of catheter ablation for atrial fibrillation in females. *Heart Rhythm* 2010;7:167-72.
46. Shoemaker MB, Muhammad R, Farrell M, et al. Relation of morbid obesity and female gender to risk of procedural complications in patients undergoing atrial fibrillation ablation. *Am J Cardiol* 2013;111:368-73.
47. Iwasaki YK, Nishida K, Kato T, Nattel S. Atrial fibrillation pathophysiology: implications for management. *Circulation* 2011;124:2264-74.

48. Tsai WC, Chen YC, Lin YK, Chen SA, Chen YJ. Sex differences in the electrophysiological characteristics of pulmonary veins and left atrium and their clinical implication in atrial fibrillation. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 2011;4:550-9.
49. Tsai WC, Chen YC, Kao YH, Lu YY, Chen SA, Chen YJ. Distinctive sodium and calcium regulation associated with sex differences in atrial electrophysiology of rabbits. *Int J Cardiol* 2013;168:4658-66.
50. Ambrosi CM, Yamada KA, Nerbonne JM, Efimov IR. Gender differences in electrophysiological gene expression in failing and non-failing human hearts. *PLoS One* 2013;8:e54635.
51. Pfannmuller B, Boldt A, Reutemann A, et al. Gender-specific remodeling in atrial fibrillation? *Thorac Cardiovasc Surg* 2013;61:66-73.
52. Nowak B, Misselwitz B, Erdogan A, et al. Do gender differences exist in pacemaker implantation?--results of an obligatory external quality control program. *Europace* 2010;12:210-5.
53. Schuppel R, Buchele G, Batz L, Koenig W. Sex differences in selection of pacemakers: retrospective observational study. *BMJ* 1998;316:1492-5.
54. Lamas GA, Pashos CL, Normand SL, McNeil B. Permanent pacemaker selection and subsequent survival in elderly Medicare pacemaker recipients. *Circulation* 1995;91:1063-9.
55. Brunner M, Olschewski M, Geibel A, Bode C, Zehender M. Long-term survival after pacemaker implantation. Prognostic importance of gender and baseline patient characteristics. *Eur Heart J* 2004;25:88-95.
56. Pyatt JR, Somauroo JD, Jackson M, et al. Long-term survival after permanent pacemaker implantation: analysis of predictors for increased mortality. *Europace* 2002;4:113-9.
57. Sanguinetti MC, Tristani-Firouzi M. hERG potassium channels and cardiac arrhythmia. *Nature* 2006;440:463-9.
58. Makkar RR, Fromm BS, Steinman RT, Meissner MD, Lehmann MH. Female gender as a risk factor for torsades de pointes associated with cardiovascular drugs. *JAMA* 1993;270:2590-7.
59. Lehmann MH, Hardy S, Archibald D, quart B, MacNeil DJ. Sex difference in risk of torsade de pointes with d,l-sotalol. *Circulation* 1996;94:2535-41.

60. Yang X, Chen G, Papp R, Defranco DB, Zeng F, Salama G. Oestrogen upregulates L-type Ca²⁺(+) channels via oestrogen-receptor- by a regional genomic mechanism in female rabbit hearts. *J Physiol* 2012;590:493-508.
61. Rodriguez I, Kilborn MJ, Liu XK, Pezzullo JC, Woosley RL. Drug-induced QT prolongation in women during the menstrual cycle. *JAMA* 2001;285:1322-6.
62. Locati EH, Zareba W, Moss AJ, et al. Age- and sex-related differences in clinical manifestations in patients with congenital long-QT syndrome: findings from the International LQTS Registry. *Circulation* 1998;97:2237-44.
63. Zareba W, Moss AJ, Locati EH, et al. Modulating effects of age and gender on the clinical course of long QT syndrome by genotype. *J Am Coll Cardiol* 2003;42:103-9.
64. Priori SG, Schwartz PJ, Napolitano C, et al. Risk stratification in the long-QT syndrome. *N Engl J Med* 2003;348:1866-74.
65. Costa J, Lopes CM, Barscheset A, et al. Combined assessment of sex- and mutation-specific information for risk stratification in type 1 long QT syndrome. *Heart Rhythm* 2012;9:892-8.
66. Han W, Wang Z, Nattel S. Slow delayed rectifier current and repolarization in canine cardiac Purkinje cells. *Am J Physiol (Heart Circ Physiol)* 2001;280:H1075-H1080.
67. Migdalovich D, Moss AJ, Lopes CM, et al. Mutation and gender-specific risk in type 2 long QT syndrome: implications for risk stratification for life-threatening cardiac events in patients with long QT syndrome. *Heart Rhythm* 2011;8:1537-43.
68. Barscheset A, Dotsenko O, Goldenberg I. Genotype-Specific Risk Stratification and Management of Patients with Long QT Syndrome. *Ann Noninvasive Electrocardiol* 2013;10.1111/anec.12117.
69. Priori SG, Wilde AA, Horie M, et al. Executive summary: HRS/EHRA/APHRS expert consensus statement on the diagnosis and management of patients with inherited primary arrhythmia syndromes. *Europace* 2013;15:1389-406.
70. Benito B, Sarkozy A, Mont L, et al. Gender differences in clinical manifestations of Brugada syndrome. *J Am Coll Cardiol* 2008;52:1567-73.
71. Di Diego JM, Cordeiro JM, Goodrow RJ, et al. Ionic and cellular basis for the predominance of the Brugada syndrome phenotype in males. *Circulation* 2002;106:2004-11.

72. Haissaguerre M, Derval N, Sacher F, et al. Sudden cardiac arrest associated with early repolarization. *N Engl J Med* 2008;358:2016-23.
73. Benito B, Guasch E, Rivard L, Nattel S. Clinical and mechanistic issues in early repolarization of normal variants and lethal arrhythmia syndromes. *J Am Coll Cardiol* 2010;56:1177-86.
74. Viskin S, Adler A, Belhassen B. Idiopathic ventricular fibrillation. In: Gussak I, Antzelevitch C, eds. *Electrical diseases of the heart*. Vol 1. 2nd ed. London: Springer-Verlag, 2013:629-46.
75. Antzelevitch C, Yan GX. J wave syndromes. *Heart Rhythm* 2010;7:549-58.
76. Alders M, Koopmann TT, Christiaans I, et al. Haplotype-sharing analysis implicates chromosome 7q36 harboring DPP6 in familial idiopathic ventricular fibrillation. *Am J Hum Genet* 2009;84:468-76.
77. Xiao L, Koopmann TT, Ordog B, et al. Unique cardiac Purkinje fiber transient outward current beta-subunit composition: a potential molecular link to idiopathic ventricular fibrillation. *Circ Res* 2013;112:1310-22.
78. Hayashi M, Denjoy I, Extramiana F, et al. Incidence and risk factors of arrhythmic events in catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. *Circulation* 2009;119:2426-34.
79. Mazzanti A, Kanthan A, Monteforte N, et al. Novel insights in the natural history of Short QT Syndrome. *J Am Coll Cardiol* 2013;10.1016/j.jacc.2013.09.078.
80. Hoffmayer KS, Gerstenfeld EP. Diagnosis and management of idiopathic ventricular tachycardia. *Curr Probl Cardiol* 2013;38:131-58.
81. Nakagawa M, Takahashi N, Nobe S, et al. Gender differences in various types of idiopathic ventricular tachycardia. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2002;13:633-8.
82. Hu X, Wang J, Xu C, He B, Lu Z, Jiang H. Effect of oestrogen replacement therapy on idiopathic outflow tract ventricular arrhythmias in postmenopausal women. *Arch Cardiovasc Dis* 2011;104:84-8.
83. Abi-Gerges N, Small BG, Lawrence CL, Hammond TG, Valentin JP, Pollard CE. Evidence for gender differences in electrophysiological properties of canine Purkinje fibres. *Br J Pharmacol* 2004;142:1255-64.

84. Kannel WB, Wilson PW, D'Agostino RB, Cobb J. Sudden coronary death in women. *Am Heart J* 1998;136:205-12.
85. Buxton AE, Hafley GE, Lehmann MH, et al. Prediction of sustained ventricular tachycardia inducible by programmed stimulation in patients with coronary artery disease. Utility of clinical variables. *Circulation* 1999;99:1843-50.
86. Olsson G, Wikstrand J, Warnold I, et al. Metoprolol-induced reduction in postinfarction mortality: pooled results from five double-blind randomized trials. *Eur Heart J* 1992;13:28-32.
87. Santangeli P, Pelargonio G, Dello Russo A, et al. Gender differences in clinical outcome and primary prevention defibrillator benefit in patients with severe left ventricular dysfunction: a systematic review and meta-analysis. *Heart Rhythm* 2010;7:876-82.
88. van der Heijden AC, Thijssen J, Borleffs CJ, et al. Gender-specific differences in clinical outcome of primary prevention implantable cardioverter defibrillator recipients. *Heart* 2013;99:1244-9.
89. Bhavnani SP, Pavuluri V, Coleman CI, et al. The gender-paradox among patients with implantable cardioverter-defibrillators: a propensity-matched study. *Pacing Clin Electrophysiol* 2013;36:878-84.
90. Alba AC, Braga J, Gewarges M, Walter SD, Guyatt GH, Ross HJ. Predictors of mortality in patients with an implantable cardiac defibrillator: A systematic review and meta-analysis. *Can J Cardiol* 2013;29:1729-40.
91. Hernandez AF, Fonarow GC, Liang L, et al. Sex and racial differences in the use of implantable cardioverter-defibrillators among patients hospitalized with heart failure. *JAMA* 2007;298:1525-32.
92. Vriesendorp PA, Schinkel AF, Van Cleemput J, et al. Implantable cardioverter-defibrillators in hypertrophic cardiomyopathy: patient outcomes, rate of appropriate and inappropriate interventions, and complications. *Am Heart J* 2013;166:496-502.
93. O'Mahony C, Lambiase PD, Quarta G, et al. The long-term survival and the risks and benefits of implantable cardioverter defibrillators in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Heart* 2012;98:116-25.

94. Bauce B, Frigo G, Marcus FI, et al. Comparison of clinical features of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy in men versus women. *Am J Cardiol* 2008;102:1252-7.
95. Verheugt CL, Uiterwaal CS, van der Velde ET, et al. Gender and outcome in adult congenital heart disease. *Circulation* 2008;118:26-32.
96. Khairy P, Aboulhosn J, Gurvitz MZ, et al. Arrhythmia burden in adults with surgically repaired tetralogy of Fallot: a multi-institutional study. *Circulation* 2010;122:868-75.
97. Khairy P, Harris L, Landzberg MJ, et al. Sudden death and defibrillators in transposition of the great arteries with intra-atrial baffles: a multicenter study. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 2008;1:250-7.
98. Cheng J. Evidences of the gender-related differences in cardiac repolarization and the underlying mechanisms in different animal species and human. *Fundam Clin Pharmacol* 2006;20:1-8.
99. James AF, Arberry LA and Hancox JC. Gender-related differences in ventricular myocyte repolarization in guinea pig. *Basic Res Cardiol* 2004;99:183-92.
100. Saito T, Ciobotaru A, Bopassa JC, et al. Estrogen contributes to gender differences in mouse ventricular repolarization. *Circ Res* 2009;105:343-52.
101. Liu XK, Katchman A, Whitfield BH, et al. In vivo androgen treatment shortens the QT interval and increases the densities of inward and delayed rectifier potassium currents in orchietomized male rabbits. *Cardiovasc Res* 2003;57:28-36.
102. Chen G, Yang X, Alber S, Shusterman V, Salama G. Regional genomic regulation of cardiac sodium-calcium exchanger by oestrogen. *J Physiol* 2011;589(Pt 5):1061-80.
103. Parks RJ, Howlett SE. Sex differences in mechanisms of cardiac excitation-contraction coupling. *Pflugers Arch* 2013;465:747-63.
104. Johnson BD, Zheng W, Korach KS et al. Increased expression of the cardiac L-type calcium channel in estrogen receptor-deficient mice. *J Gen Physiol* 1997;110:135-40.
105. Nakajima T, Iwasawa K, Oonuma H et al. Antiarrhythmic effect and its underlying ionic mechanism of 17beta-estradiol in cardiac myocytes. *Br J Pharmacol* 1999;127:429-40.
106. Philp KL, Coker SJ, Hussain M et al. Actions of 17b-oestradiol on the current-voltage relationship for the L-type calcium current (I_{Ca}) in ventricular myocytes isolated from male and female rats. *J Physiol* 2002;544P-57P-58P.

107. Leblanc N, CHartier D, Gosselin H et al. Age and gender differences in excitation-contraction coupling of the rat ventricle. *J Physiol* 1998;511,533-548.

Table 1. Sex differences/sex hormone effects in ventricular electrophysiology

Species	Variables measured (current)*	Observations	Reference(s)
Dogs	QT-interval	Castration: ↑ Androgen :↓	14
	I _{CaL}	Female > Male	15
	Kv4.3 (I _{to})	Androgen : ↑	14
	Kir2.1 (I _{K1})	Androgen: ↑	14
	Nav1.5 (I _{Na})	No effect of estrogen or androgen	14
Guinea Pigs	APD ₉₀	Androgen : ↓	98
	I _{K1}	Androgen: ↑	99
	I _{Ks}	Androgen: ↑	16
	I _{Kr}	Estrogen: ↓	98
	I _{CaL}	Androgen: ↓	16
	I _{CaL}	Estrogen: ↓	105
Mice	I _{CaL}	Male > Female	99
	QT-interval	Female > Male	12
	I _{Kur} /Kv1.5	Male > Female; Androgen : ↑	13
	I _{to} /Kv4.3	Male > Female	100
	I _{CaL}	No difference	12
	I _{CaL}	Estrogen : ↓	104
Rabbits	Repolarization reserve	Androgen : ↑	13
	QT-interval (APD)	Female > Male (Estrogen : ↑ EAD/TdP)	98
	I _{K1} (inward portion)	Androgen: ↑	101
	I _{Kr}	Androgen: ↑	101
	I _{CaL} /Cav1.2	Estrogen: ↑	60
Rats	INCX/NCX1	Estrogen: ↑	102
	I _{CaL}	No difference	106
	I _{K1}	No difference	107
	Ca ²⁺ transient	Estrogen: ↓	103
Humans	QT-interval	Female > Male	103
	HERG (I _{Kr}) ⁺	Male > Female	17
	minK (I _{Ks}) ⁺	Male > Female	17
	Kir2.3 (I _{K1}) [#]	Male > Female	17
	KChIP2 (I _{to}) ⁺	Male > Female	17
	Nav1.5 (I _{Na}) ⁺	No difference	17

*The primary variable(s) measured is (are) shown without brackets; where only ion-channel subunit expression was quantified, the corresponding current is shown in brackets.

+Differences at both protein and mRNA levels; #Only mRNA data available,

Figure Legends

- Figure 1.** Normal sex differences in electrophysiological variables. AH, HV=AH, HV intervals; AERP=atrial ERP; AVN=AV-node; ERP=effective refractory period; F=females; M=males; SNCL=sinus-node cycle-length; SNRT= sinus-node recovery time; VRP=ventricular ERP; WCL=Wenckebach cycle-length.
- Figure 2.** Female ovarian cycle with related electrophysiological changes and arrhythmia susceptibility. Follicular-phase properties are in red; luteal in blue.
- Figure 3.** Sex differences in supraventricular arrhythmia susceptibility. AF=atrial fibrillation; AT=atrial tachycardia; AVNRT=atrioventricular-node reentrant tachycardia; AVRT=atrioventricular reentrant tachycardia; M=males; F=females.
- Figure 4.** Sex differences in ventricular cardiomyocyte electrophysiology. I_K =delayed-rectifier K^+ -current; I_{to} = transient-outward K^+ -current
- Figure 5.** Sex differences in overall mortality and appropriate therapy in patients randomized in primary prevention ICD trials. Forest plot showing sex-differences in overall mortality and appropriate ICD therapy from major randomized controlled trials and pooled data for primary-prevention ICD in systolic dysfunction. Reproduced with permission from reference 87.

**Specialized
Electrical
System**

SCL $M > F$
SNRT $M > F$

AH $M > F$
AVN ERP $M > F$
WCL $M > F$
Dual-Pathways
 $M = F$

HV $M > F$

**Contractile
Myocardium**

AERP $M \geq F$
P Wave Duration
 $M \geq F$

QRS duration
 $M > F$
VERP $M \leq F$
QTc $M < F$

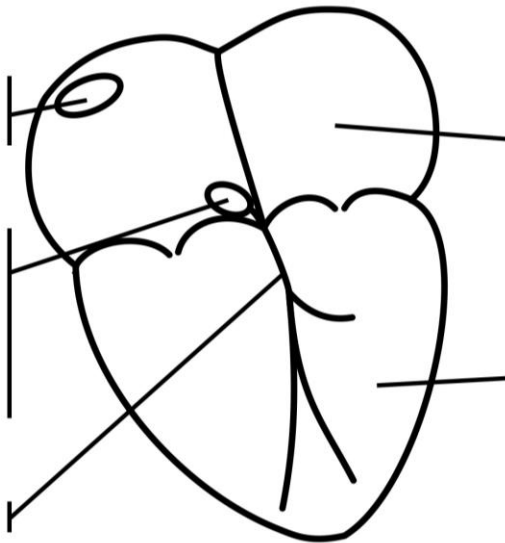


Figure 1

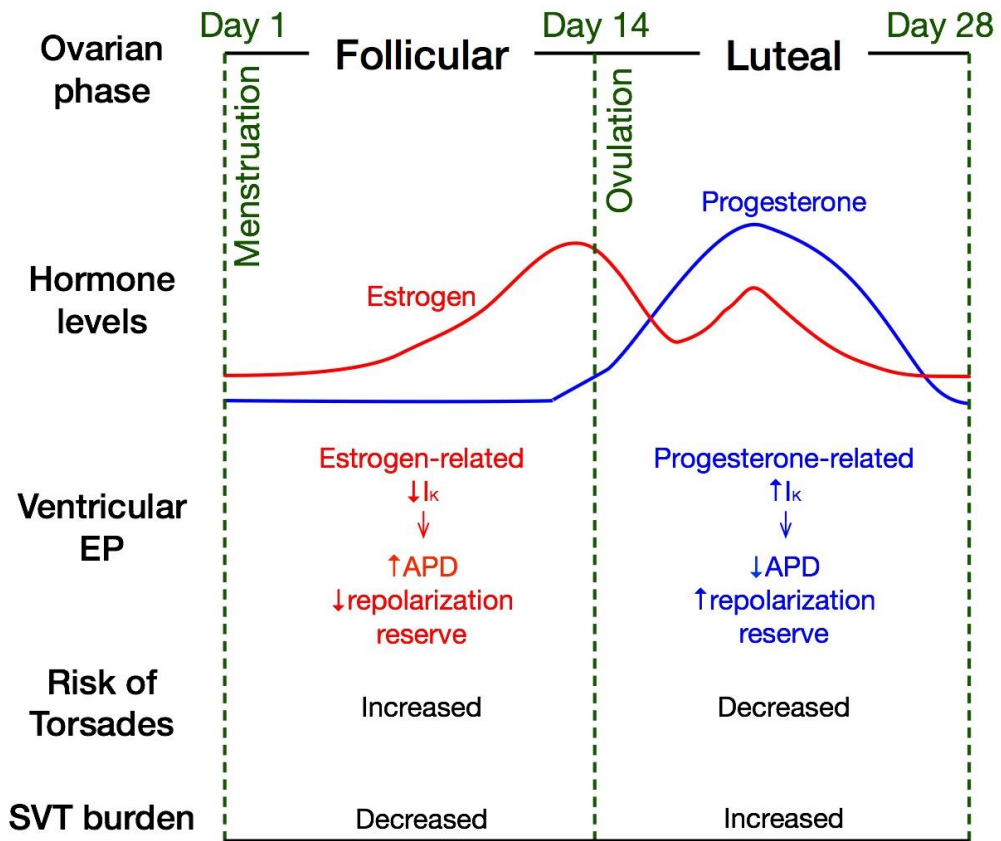


Figure 2

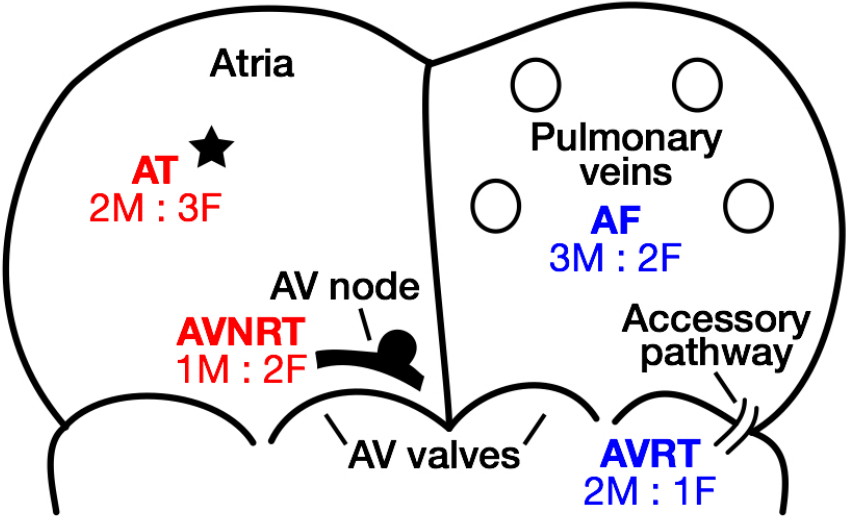


Figure 3

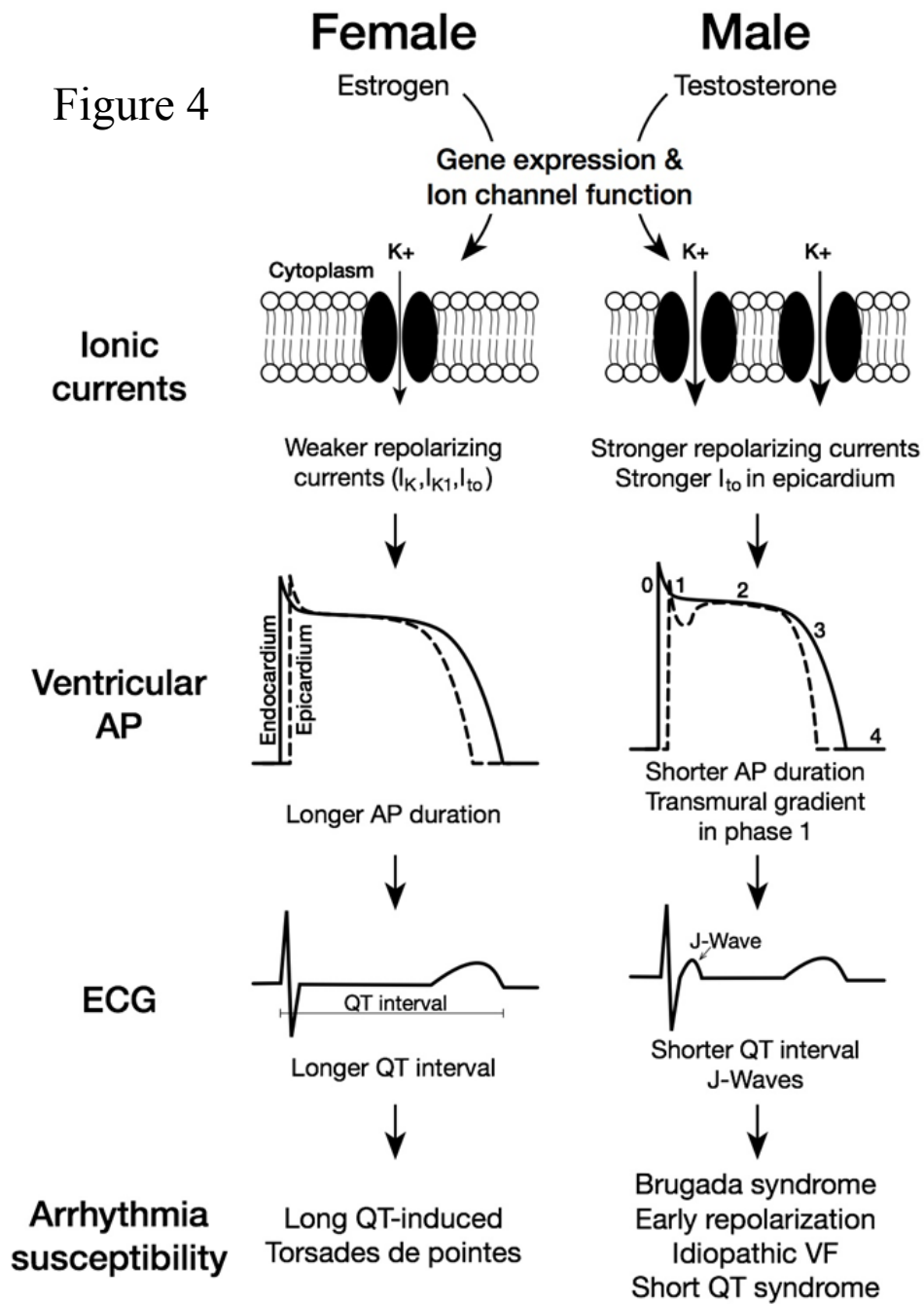
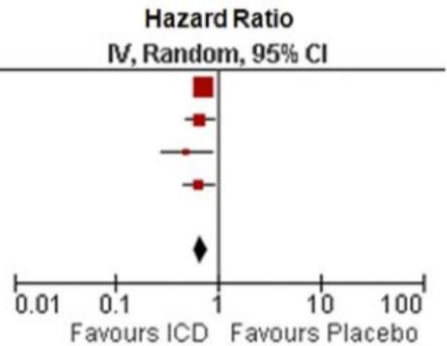


Figure 4

A) ICD survival benefit in men

Study or Subgroup	Weight	IV, Random, 95% CI
SCD-HeFT	51.0%	0.71 [0.57, 0.88]
MADIT-II	23.5%	0.66 [0.48, 0.90]
DEFINITE	6.6%	0.49 [0.27, 0.88]
COMPANION	18.8%	0.65 [0.46, 0.92]
Total (95% CI)	100.0%	0.67 [0.58, 0.78]

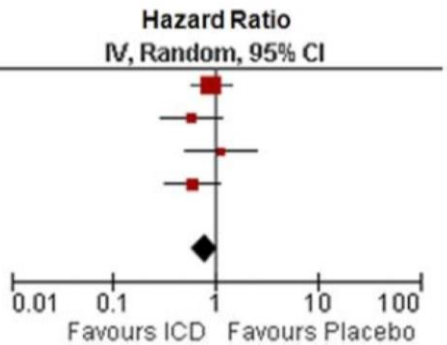
Heterogeneity: Tau² = 0.00; Chi² = 1.40, df = 3 (P = 0.70); I² = 0%
 Test for overall effect: Z = 5.17 (P < 0.00001)



B) ICD survival benefit in women

Study or Subgroup	Weight	IV, Random, 95% CI
SCD-HeFT	44.3%	0.90 [0.57, 1.43]
MADIT-II	18.9%	0.57 [0.28, 1.15]
DEFINITE	14.1%	1.14 [0.50, 2.58]
COMPANION	22.8%	0.59 [0.31, 1.12]
Total (95% CI)	100.0%	0.78 [0.57, 1.05]

Heterogeneity: Tau² = 0.00; Chi² = 2.69, df = 3 (P = 0.44); I² = 0%
 Test for overall effect: Z = 1.63 (P = 0.10)



C) Appropriate ICD intervention

Study or Subgroup	Weight	IV, Random, 95% CI
SCD-HeFT	39.4%	0.78 [0.52, 1.17]
MADIT-II	27.9%	0.60 [0.37, 0.97]
DEFINITE	7.1%	0.39 [0.15, 1.01]
COMPANION	25.6%	0.56 [0.34, 0.92]
Total (95% CI)	100.0%	0.63 [0.49, 0.82]

Heterogeneity: Tau² = 0.00; Chi² = 2.32, df = 3 (P = 0.51); I² = 0%
 Test for overall effect: Z = 3.54 (P = 0.0004)

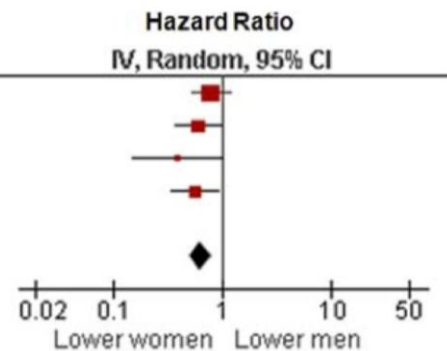


Figure 5