



HAL
open science

Evaluation in-vivo de la viscosité pariétale des artères de conductance : impact du vieillissement, de la dysfonction endothéliale et de la réduction pharmacologique de la fréquence cardiaque.

Frédéric Roca

► To cite this version:

Frédéric Roca. Evaluation in-vivo de la viscosité pariétale des artères de conductance : impact du vieillissement, de la dysfonction endothéliale et de la réduction pharmacologique de la fréquence cardiaque.. Cardiologie et système cardiovasculaire. Normandie Université, 2019. Français. NNT : 2019NORMR116 . tel-02505520

HAL Id: tel-02505520

<https://theses.hal.science/tel-02505520>

Submitted on 11 Mar 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THESE

Présentée et soutenue publiquement par

Frédéric ROCA

En vue de l'obtention du grade de :

Docteur en Science de la Vie et de la Santé

délivré par

L'Université de Rouen Normandie

**Évaluation in vivo de la viscosité pariétale des artères de conductance :
impact du vieillissement, de la dysfonction endothéliale et de la réduction
pharmacologique de la fréquence cardiaque**

Le 12 décembre 2019

Devant le jury composé de :

M. le Pr Pierre BOUTOUYRIE	PU-PH, Université Paris-Descartes	Rapporteur
M. le Pr Olivier HANON	PU-PH, Université Paris-Descartes	Rapporteur
M. le Pr Athanase BENETOS	PU-PH, Université de Nancy	Examinateur
M. le Pr Philippe CHASSAGNE	PU-PH, Université de Rouen	Examinateur
Mme le Pr Anne-Marie LEROI	PU-PH, Université de Rouen	Examinatrice
Mme le Pr Sophie LIABEUF	PU-PH, Université d'Amiens	Examinatrice
M. le Dr Robinson JOANNIDES	PH, HDR, Université de Rouen	Directeur

Résumé

Les artères de conductance ont un comportement viscoélastique mais la composante visqueuse a été moins étudiée chez l'homme, que la composante élastique. Cette viscosité pariétale artérielle participe à la dissipation d'une partie de l'énergie élastique emmagasinée au cours du cycle cardiaque. Elle pourrait altérer l'efficacité du couplage cardio-circulatoire au cours du vieillissement ou de l'HTA. A l'inverse, une baisse de cette composante pourrait être délétère en n'atténuant pas suffisamment l'énergie élastique transmise à la paroi artérielle et aux organes périphériques. Dans ce contexte, l'évaluation de ce paramètre chez l'homme en physiologie et au cours du vieillissement normal ou accéléré est nécessaire. De plus, l'identification des déterminants de la viscosité pariétale et la recherche de cibles pharmacologiques modifiant spécifiquement la viscosité semblent pertinentes.

Ce travail a pour objectifs d'évaluer la viscosité pariétale au niveau des artères de conductance chez le sujet jeune mais également au cours du vieillissement et de l'HTA, de déterminer le rôle de l'endothélium et du tonus musculaire dans la régulation de la viscosité pariétale à l'état basal et stimulé et enfin d'évaluer l'effet de la réduction pharmacologique de la fréquence cardiaque (FC) sur la viscosité pariétale et l'impact du vieillissement sur cet effet.

Nous avons évalué la viscosité pariétale par deux méthodes, l'une au niveau carotidien et l'autre au niveau radial à partir de techniques d'écho-tracking vasculaire haute résolution et de tonométrie ou de pléthysmographie. Ceci nous a permis d'obtenir des relations pression-diamètre ou pression-section permettant une évaluation thermodynamique du phénomène visqueux.

Ainsi, nous avons montré que la viscosité pariétale artérielle est régulée, au niveau de l'artère radiale, par le monoxyde d'azote et les acides époxyeicosatriénoïques endothéliaux, chez le sujet sain comme chez le patient hypertendu. Ces facteurs semblent agir par des mécanismes tonus-dépendants et indépendants. Au cours de l'hypertension artérielle, on constate une augmentation de l'énergie dissipée parallèle à l'augmentation d'énergie emmagasinée dans la paroi résultant en une viscosité relative stable à l'état basal. Cependant, lors de l'augmentation du flux, ce mécanisme adaptatif est altéré, du fait de la dysfonction endothéliale au cours de l'hypertension, résultant en une augmentation de la viscosité absolue et relative. Au niveau carotidien, la réduction de la FC par l'ivabradine augmente la viscosité absolue parallèlement à l'augmentation de l'énergie élastique, aboutissant à une viscosité relative stable, chez le sujet sain ayant une FC supérieure à 70 bpm au repos. Dans cette population, les sujets d'âge moyen présentent des viscosités absolue et relative moindres que les sujets jeunes à l'état basal. Lors de la réduction pharmacologique de la FC, ils présentent également une augmentation majeure de la viscosité absolue et relative suggérant une altération de ce mécanisme adaptatif.

Mots-clés : Viscosité pariétale artérielle, fréquence cardiaque, ivabradine, endothélium, hypertension, vieillissement artériel.

Remerciements

Monsieur le Professeur Pierre Boutouyrie,

Vous me faites l'honneur de juger ce travail, veuillez trouver ici l'expression de mes sincères remerciements et de mon profond respect. Veuillez également trouver dans ces quelques mots, l'expression de ma gratitude pour avoir accepté d'apporter votre expertise dans le jugement de ce travail.

Monsieur le Professeur Olivier Hanon,

Vous me faites l'honneur de juger ce travail, veuillez trouver ici l'expression de mes sincères remerciements et de mon profond respect. Veuillez également trouver dans ces quelques mots, l'expression de ma gratitude pour avoir accepté d'apporter votre expertise dans le jugement de ce travail et m'avoir accueilli dans votre service lorsque j'étais encore interne.

Monsieur le Professeur Athanase Benetos,

Vous me faites l'honneur participer à ce jury, veuillez trouver ici l'expression de mes sincères remerciements et de mon profond respect. Veuillez également trouver dans ces quelques mots, l'expression de ma gratitude pour avoir accepté d'apporter votre expertise dans le jugement de ce travail.

Monsieur le Professeur Philippe Chassagne,

Vous me faites l'honneur participer à ce jury, veuillez trouver ici l'expression de mes sincères remerciements et de mon profond respect. Veuillez également trouver dans ces quelques mots, l'expression de ma gratitude pour avoir accepté d'apporter votre expertise dans le jugement de ce travail, pour m'avoir donné l'envie de faire de la gériatrie et pour votre accompagnement dans mon parcours médical et universitaire.

Madame le Professeur Anne-Marie Leroi,

Vous me faites l'honneur participer à ce jury, veuillez trouver ici l'expression de mes sincères remerciements et de mon profond respect. Veuillez également trouver dans ces quelques mots, l'expression de ma gratitude pour avoir accepté d'apporter votre expertise dans le jugement de ce travail.

Madame le Professeur Sophie Liabeuf,

Vous me faites l'honneur participer à ce jury, veuillez trouver ici l'expression de mes sincères remerciements et de mon profond respect. Veuillez également trouver dans ces quelques mots, l'expression de ma gratitude pour avoir accepté d'apporter votre expertise dans le jugement de ce travail.

Monsieur le Docteur Robinson Joannides,

Robinson, merci de m'avoir accompagné pour ce travail, ta pertinence et ta rigueur m'ont permis d'avancer et de me remettre toujours en question. Merci pour ta disponibilité et ta bienveillance, trouve ici l'expression de mes sincères remerciements et de mon profond respect.

A ma fille, Inès, cette thèse t'es dédiée,

A ma femme, Fanny, pour ta présence à mes côtés au cours de ces nombreuses années. Sans toi je n'en serai pas là, tu es formidable...

A mes parents et à mon frère, pour votre soutien permanent,

A ma famille et ma belle-famille,

A mes amis,

Aux membres de la pharmacologie clinique, Michaela, Jeremy, Thomas, Julien et tous les autres pour votre aide et votre accueil,

A mes co-chefs de gériatrie, pour m'avoir libéré du temps pour faire avancer ce travail,

A toutes les personnes que j'ai pu croiser ou avec qui j'ai travaillé que ce soit en clinique ou en recherche.

Sommaire

TABLE DES FIGURES	8
LISTE DES ABBREVIATIONS	9
INTRODUCTION GENERALE	11
DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES	14
I. Organisation générale et physiologie du système artériel	14
1. Structure de la paroi artérielle	14
2. Fonction du système artériel.....	17
3. Physiologie artérielle	19
4. Propriétés mécaniques artérielles	23
a. Contrainte et déformation.....	23
b. Relation contrainte-déformation.....	25
c. Évaluation des paramètres mécaniques artériels	27
i. Approche par la vitesse de l'onde de pression (VOP).....	27
ii. Les index systolo-diastoliques.....	28
iii. Les index instantanés.....	29
5. Déterminants des propriétés mécaniques artérielles	31
6. Rhéologie et force de cisaillement	33
7. Régulation endothéliale des propriétés mécaniques artérielles	35
a. Les effecteurs de la réponse endothéliale	35
i. Le monoxyde d'azote	35
ii. Les eicosanoïdes	36
iii. L'endothéline-1 (ET-1)	38
b. Principales méthodes cliniques d'exploration de la fonction endothéliale	38
i. Méthodes fonctionnelles par stimulation endothéliale pharmacologique	38
ii. Méthodes fonctionnelles par stimulation endothéliale physiologique/mécanique	40
iii. Facteurs circulants	42
c. Rôles des facteurs endothéliaux dans la régulation de la mécanique des artères de conductances	43
II. Vieillessement artériel et HTA essentielle	45
1. Vieillessement artériel normal	45
a. Mécanismes impliqués dans le vieillessement vasculaire.....	45
b. La dysfonction endothéliale au cours du vieillessement.....	46
c. Conséquences du vieillessement sur la physiologie artérielle	47
2. HTA essentielle, dysfonction endothéliale et mécanique des artères de conductance.	50
a. HTA essentielle et dysfonction endothéliale	51
b. HTA essentielle et mécanique des artères de conductance	52

III. La viscosité pariétale	55
1. Concept théorique.....	55
a. Le comportement viscoélastique : approche générale et modèles théoriques.....	55
b. Évaluation du comportement visqueux des matériaux.....	59
i. Première approche : mesure de l'angle de phase	59
ii. Deuxième approche : modélisation complexe.....	60
iii. Troisième approche : approche thermodynamique	61
iv. Relation entre les 3 approches.....	63
2. Caractérisation du comportement viscoélastique artériel.....	63
a. Approches in vitro	64
b. Approche in vivo	66
i. Approche fréquentielle	66
ii. Approche temporelle	67
3. Déterminants de la viscosité.....	73
a. Les conditions de travail artérielles.....	73
i. La contrainte pariétale	73
ii. La fréquence cardiaque	74
b. La matrice extracellulaire.....	75
c. La cellule musculaire lisse	76
d. Le tonus musculaire.....	77
e. La fonction endothéliale.....	78
4. Effets du vieillissement et de la pathologie sur la viscosité pariétale	79
a. Effet du vieillissement sur la viscosité pariétale	79
b. Effet de l'HTA sur la viscosité pariétale	79
c. Effet du diabète sur la viscosité pariétale.....	80
5. Conséquences hémodynamiques de la viscosité pariétale : bénéfiques ou délétères ?	82
IV. La fréquence cardiaque	83
1. Automatisme cardiaque.....	83
2. Déterminants de la fréquence cardiaque	84
3. Marqueur ou facteur de risque cardiovasculaire ?.....	85
4. Physiopathologie de l'effet délétère de l'augmentation de la FC.....	86
a. Effet de l'augmentation de la FC sur la fonction cardiaque.....	86
b. Effets de l'augmentation de la FC sur la fonction artérielle.....	87
i. Effets pro-athérogènes de l'augmentation de la FC	87
ii. Effets de l'augmentation de la FC sur la mécanique artérielle.....	87
c. Effet de la réduction de la fréquence cardiaque sur la mécanique vasculaire	90
i. Les β -bloquants	90
ii. Les inhibiteurs calciques bradycardisants :	92
5. L'ivabradine	92
a. Pharmacocinétique et pharmacodynamie de l'ivabradine.....	92
b. Effets cardiaques de l'ivabradine	93
c. Effets vasculaires de l'ivabradine.....	94
d. Viscosité pariétale et ivabradine.....	96

OBJECTIFS GENERAUX.....	97
METHODOLOGIE GENERALE	98
I. Mesure de la viscosité pariétale au niveau de l'artère radiale	98
II. Évaluation de la mécanique artérielle radiale	99
III. Évaluation du rôle des facteurs endothéliaux et de la régulation endothélium- indépendante du tonus musculaire lisse dans la régulation de la viscosité pariétale	100
IV. Épreuves de stimulation endothéliale	100
V. Mesure de la viscosité pariétale au niveau de l'artère carotide commune.....	101
VI. Évaluation de la géométrie et de la mécanique artérielle carotidienne.....	104
VII. Évaluation de la morphologie de l'onde de pression et de la VOP par tonométrie d'aplanation (SphygmoCor®).....	104
VIII. Évaluation des vitesses carotidiennes et de la contrainte de cisaillement	106
IX. Évaluation des paramètres cardiaques et vasculaires par bioimpédancemétrie....	107
RESULTATS	108
I. Étude n°1 : Rôle de l'endothélium vasculaire dans le contrôle de la viscosité pariétale artérielle chez l'Homme.....	109
II. Étude n°2 : L'adaptation endothéliale de la viscosité pariétale artérielle lors de l'augmentation du débit sanguin est altérée au cours de l'hypertension artérielle essentielle.....	125
III. Étude n°3 : Effet de la réduction pharmacologique de la fréquence cardiaque par l'ivabradine sur la viscosité pariétale de l'artère carotide.	136
DISCUSSION GENERALE	171
CONCLUSION	179
BIBLIOGRAPHIE	180

TABLE DES FIGURES

Figure 1. Représentation schématique d'une boucle pression-surface.....	11
Figure 2. Organisation générale des artères	15
Figure 3. Variations physiologiques de la pression artérielle le long de l'arbre artériel.....	17
Figure 4. Sommation des ondes antérograde et réfléchie à différents niveaux des artères de conductance (A). Onde de pression résultante de la sommation des ondes antérograde et réfléchie (B).....	20
Figure 5. Amplification de la pression au niveau des artères de conductance.....	21
Figure 6. Contrainte et déformation d'un cylindre dans 3 dimensions.	24
Figure 7. Effet du vieillissement sur les variations de la pression artérielle le long de l'arbre artériel.....	48
Figure 8. Effet du vieillissement sur le système cardiovasculaire.	49
Figure 9. Représentation schématique du cercle vicieux d'aggravation des altérations des petites artères de résistance et des artères de conductance au cours de l'HTA essentielle.	51
Figure 10. Modèle de Maxwell	56
Figure 11. Modèle de Voigt	57
Figure 12. Modèle à trois paramètres.....	57
Figure 13. Décalage de l'angle de phase δ pour les élastiques parfait, les solides viscoélastiques et les fluides visqueux parfait.....	60
Figure 14. Boucle pression-diamètre au niveau d'une artère de queue de rat, pour de faibles oscillations sinusoïdales (A). Reconstruction de la boucle d'hystérèse à partir des boucles de faible amplitude d'oscillation (B).....	64
Figure 15. Relation contrainte visqueuse- dr/dt	69
Figure 16. Evaluation de la morphologie de l'onde de pression	105

LISTE DES ABBREVIATIONS

δ : angle de phase

η : coefficient de viscosité

σ : contrainte pariétale

τ : taux de cisaillement

ω : vitesse angulaire

$\eta\omega$: module de perte

AGE : produits de glycation avancée

Aix : index d'augmentation

AMPc : adénosine monophosphate cyclique

AP : augmentation de la pression centrale

BH₄ : tétrahydrobioptérine

CC : compliance sectionnelle

CML : cellules musculaires lisses

COX : cyclooxygénases

CYP 450 : cytochrome P450

DC : distensibilité sectionnelle

DHET : acides dihydroxyeicosatriénoïques

E* : module complexe

e/n/iNOS : NO-synthase endothéliale/neuronale/inductible

ECG : électrocardiogramme

EDHF : facteurs hyperpolarisants dérivés de l'endothélium

E_{dyn} : module dynamique

EETs : acide époxyeicosatriénoïque

EIM : épaisseur intima-media

E_{inc} : module élastique incrémentale

E_{stat} : module statique

ET-1 : endothéline-1

FC : Fréquence cardiaque

HETE : acides hydroxyeicosatétraénoïques

HTA : hypertension artérielle

HTAP : hypertension artérielle pulmonaire

IEC : inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine

I_f : « funny » courant

IMC : indice de masse corporelle

K_{Ca} : Canaux potassiques calcium-dépendant

L-NMMA: N^G -monomethyl-L-arginine

LCSA : surface luminale artérielle sectionnelle

MEC : matrice extra-cellulaire

NO : monoxyde d'azote

PA : pression artérielle

PAD : pression artérielle diastolique

PAM : pression artérielle moyenne

PAS : pression artérielle systolique

PGI_2 : Prostacycline

PLA2 : phospholipase A2

PP : pression pulsée

RAGE : récepteur aux AGEs

ROS : espèces réactives de l'oxygène

sEH : époxyde hydrolase soluble

SNP : nitroprussiate de sodium

TEA : chlorure de tétraéthylammonium

VOP : vitesse de l'onde de pression

VPA : viscosité pariétale artérielle

WCSA : surface pariétale artérielle sectionnelle

W_D : énergie dissipée (calculée à partir de η)

W_E : énergie élastique emmagasinée

W_{St} : énergie emmagasinée (calculée à partir de la compliance)

W_V : énergie visqueuse (viscosité absolue)

W_V/W_E : viscosité relative

INTRODUCTION GENERALE

Le comportement mécanique des artères de conductance est viscoélastique. Alors que la composante élastique a été largement étudiée, la composante visqueuse a souvent été négligée pour des raisons méthodologiques mais également car elle était considérée comme faible.

Contrairement à un solide purement élastique qui présente une déformation/relaxation instantanée lors de l'application/arrêt d'une force, un solide viscoélastique se caractérise, d'un point de vue mécanique par un délai entre l'application ou l'arrêt de la force et la déformation (Fung, 1993; Lazan, 1968). Ainsi, au niveau artériel, l'élasticité de la paroi artérielle permet au diamètre interne d'augmenter proportionnellement à la pression artérielle durant la systole. La composante visqueuse va induire un retard à la restitution du diamètre résultant en un plus grand diamètre à chaque niveau de pression durant la phase diastolique comparativement à la phase systolique. Ceci aboutit à un décalage entre les courbes systolique et diastolique de la relation pression-diamètre, réalisant une boucle d'hystérèse. D'un point de vue thermodynamique, alors qu'un matériau purement élastique restitue intégralement l'énergie stockée lors de la phase de charge, les artères viscoélastiques vont restituer de manière incomplète cette énergie. Ainsi, la surface de la boucle d'hystérèse traduit l'énergie dissipée lors de chaque cycle cardiaque (W_V), et l'aire sous la courbe de la phase de charge représente l'énergie stockée par la paroi artérielle (W_E) lors de cette dernière. Ainsi, la viscosité pariétale artérielle (VPA) peut être exprimée soit en valeur absolue de W_V soit en fonction de l'énergie emmagasinée (W_V/W_E ; Figure 1) (Boutouyrie et al., 1997).

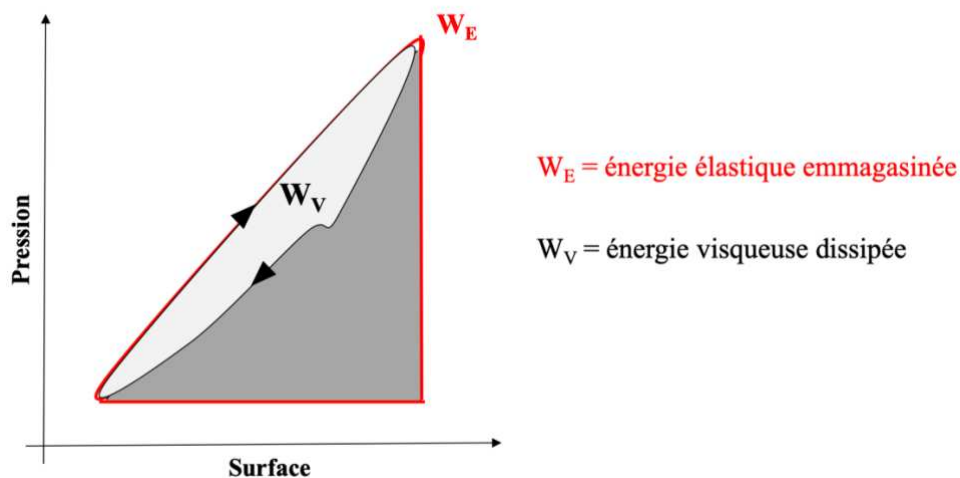


Figure 1. Représentation schématique d'une boucle pression-surface

Au plan physiologique cette perte d'énergie est minime. Son excès, au cours du vieillissement (Kawano et al., 2013) ou de l'hypertension artérielle (HTA) (Armentano et al., 2006; Stefanadis et al., 1997), pourrait s'accompagner d'une dissipation excessive d'énergie, entraînant une augmentation du travail cardiaque et un découplage cardio-circulatoire.

Les déterminants de la viscosité restent discutés. Des résultats expérimentaux et cliniques suggèrent le rôle de la viscosité propre des composants de la paroi vasculaire (Armentano et al., 1995b, 2007; Busse et al., 1981), des cellules musculaires lisses (CML) (Armentano et al., 1995b; Busse et al., 1981; Salvucci et al., 2007) et des cellules endothéliales (Armentano et al., 2001; Boutouyrie et al., 1997). Cependant, le rôle exact des facteurs endothéliaux et du tonus musculaire lisse dans la régulation de la composante visqueuse chez l'homme est mal connue. De même, l'évaluation des conséquences d'une pathologie telle que l'HTA sur la régulation endothéliale de la VPA reste à évaluer mais pourrait expliquer une partie des effets délétères de cette pathologie.

Par ailleurs, la pression pulsée (PP) et la fréquence cardiaque (FC), qui déterminent les conditions de travail mécanique de l'artère, semblent également impliquées dans la régulation de la VPA. Ainsi, plusieurs études ont évoqué le rôle de la FC dans la modulation de la viscosité pariétale, qui est de fait temps-dépendante, sans cependant le démontrer (Mangoni et al., 1996; Stefanadis et al., 2000; Tan et al., 2012). Ceci pourrait expliquer, du moins en partie, l'association observée entre une FC de repos élevée, l'augmentation de la rigidité des artères de conductance et la majoration du risque cardio-vasculaire (Benetos et al., 1999; Cook and Hess, 2010; Whelton et al., 2013). De plus, la diminution pharmacologique de la FC par les β -bloquants ou les inhibiteurs du canal *If*, semble s'accompagner d'une amélioration des propriétés mécaniques des artères de conductance qui pourrait être due à la VPA (Asmar et al., 2001; Boutouyrie et al., 2014; Joannides et al., 2006a; Reil et al., 2013; Williams et al., 2006). Cependant, ces résultats reposent sur des arguments indirects ou sont accompagnés de facteurs confondants comme la baisse de la pression artérielle. Ainsi, le rôle propre de la VPA dans cette situation reste à évaluer.

Enfin, l'influence de conditions associées à une rigidité artérielle et à une dysfonction endothéliale, telles que le vieillissement ou l'HTA, sur la VPA a été peu étudiée. Ces dernières pourraient être responsables d'une perte d'adaptation de la viscosité pariétale. De plus, ces conditions pourraient expliquer la mauvaise tolérance de la réduction pharmacologique de la FC et les résultats contrastés des bradycardisants, en maintenant de façon inappropriée une dissipation d'énergie élevée et ainsi en favorisant le découplage cardio-circulatoire (Fox et al., 2008a, 2014; Khan and McAlister, 2006; Swedberg et al., 2010). Les effets sur la VPA, d'un

inhibiteur des canaux I_f tel que l'ivabradine, sans effet vasculaire direct ni dépresseur cardiaque, sont dans ce contexte particulièrement intéressants à étudier.

Dans la première partie de ce travail, nous rappelons les données bibliographiques concernant la mécanique artérielle et la fonction endothéliale en physiologie et au cours du vieillissement et de l'HTA. Puis, nous abordons les particularités de la VPA en reprenant d'abord les concepts théoriques, les différentes méthodes d'évaluation, les conséquences de ce phénomène et les déterminants. Enfin, nous présentons les données concernant la modulation de la FC en s'attachant notamment à ses effets sur la mécanique artérielle et la VPA.

Cette introduction est suivie d'une méthodologie générale détaillant notamment les méthodes de mesure de la VPA utilisées dans les trois études réalisées.

Le premier travail a pour objectif d'étudier le rôle de facteurs endothéliaux vasorelaxants, le monoxyde d'azote (NO) et les acides époxyeicosatriénoïques (EETs), et du tonus musculaire lisse, dans la régulation de la VPA à l'état basal au niveau de l'artère radiale. Le second travail a pour objectif d'étudier le rôle des facteurs endothéliaux lors de la stimulation endothéliale par le flux dans la régulation de la VPA et l'impact de l'HTA dans cette régulation. Le troisième travail a pour objectif d'étudier l'effet de la réduction pharmacologique de la FC par l'ivabradine sur la VPA de l'artère carotide commune en tenant compte des conditions de travail hémodynamiques et rhéologiques du vaisseau et de ses propriétés mécaniques. De plus, les conséquences de cette modification de la composante visqueuse en termes de travail cardiaque et de couplage cardio-circulatoire sont analysées. Enfin, l'impact du vieillissement sur cette régulation de la viscosité pariétale lors de la bradycardie est étudié.

Ce document de thèse se termine par une discussion générale des résultats et par la présentation de perspectives qui pourront faire suite à ce travail.

DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

I. Organisation générale et physiologie du système artériel

L'arbre artériel est hétérogène. La structure des artères qui le composent varie en effet au fur et à mesure que l'on s'éloigne du cœur. Ainsi, alors que le calibre des artères va progressivement diminuer, la proportion de CML va augmenter au sein de la paroi tandis que le nombre de lames élastiques diminue (Tedgui and Lévy, 1994; Wagenseil and Mecham, 2009). Ces différences structurelles vont s'accompagner d'une innervation de plus en plus présente et de différences fonctionnelles permettant à l'ensemble du système d'assurer une distribution sanguine adaptée aux besoins métaboliques périphériques à des niveaux de pression étroitement régulés. De façon générale, on divise le système artériel en un système à haute pression et un système résistif à basse pression. Le premier est composé des artères de conductance, élastiques puis musculaires, dans lequel la pression moyenne est conservée et s'étend du cœur jusqu'aux artères de petit calibre non résistives (inter-digitales). Le second est fait de petites artères musculaires et d'artérioles de résistance dans lesquels la pression va décroître rapidement pour atteindre le système à basse pression incluant le lit capillaire et le système veineux de retour (Nichols et al., 2011). Cette organisation va permettre d'assurer le transport du sang vers la périphérie en atténuant la pulsativité de la pression et du débit sanguin. De même, elle assure la distribution du sang vers les organes, via la régulation du tonus des petites artères musculaires et des artérioles. Cette organisation s'oppose également aux dommages viscéraux qui découleraient de pressions pulsées élevées et favorise les échanges tissulaires au niveau des capillaires (Milnor, 1990).

1. Structure de la paroi artérielle

La paroi artérielle est constituée par trois feuillets : l'intima, la média et l'adventice (Figure 2). L'intima est composée d'une couche de cellules endothéliales reposant sur une fine lame basale (Greenwald, 2007; Kalluri, 2003). Les cellules endothéliales sont en contact direct avec le flux sanguin et constituent une surface d'échange estimée à plus de 300 m². La lame basale vasculaire est une matrice extracellulaire (MEC) spécialisée complexe qui sépare l'endothélium de la media. Elle a un triple rôle de soutien structural de la paroi vasculaire, de « barrière » et de régulation de la fonction de l'endothélium. Elle est composée de laminines, de fibronectine,

de protéoglycanes et de nidogène qui recouvrent le collagène de type IV organisé en maille dense (Kalluri, 2003).

La media est constituée d'une MEC faite majoritairement d'élastine et de collagène de type I, mais aussi de collagène de type III, VI, XII, de fibronectine et de protéoglycanes. Elle est également composée de plusieurs couches de CML vasculaires. L'ensemble de ces éléments s'organisent en unités lamellaires faites (Clark and Glagov, 1985; Dingemans et al., 2000) :

- De lames élastiques concentriques fenêtrées qui sont composées d'élastine, de glycoprotéines et de structures microfibrillaires (en particulier de fibrillines 1 et 2 ; d'emiline, et de fibuline)
- De fibrilles de collagène I, III et V, orientées dans le même sens que les fibres d'élastines.
- De CML dans l'espace inter lamellaire, orientées de manière circonférentielle, parallèlement aux stries d'élastines. Ces CML sont recouvertes d'une couche basale riche en fibronectine et reliées aux lames élastiques soit directement par des protrusions de l'élastine provenant de ces lames soit par des fibres d'oxytalan riches en fibrillines et en collagène de type IV (Dingemans et al., 2000).

L'adventice est la zone la plus externe de l'artère. Elle est séparée de la media par la lame élastique externe. Elle est constituée majoritairement de collagène produit par différents types de myofibroblastes. Elle est également traversée par les vasa-vasorum, des micro-vaisseaux qui apportent nutriments et oxygène (O₂) aux cellules pariétales. Le rôle de cette tunique va bien au-delà d'une structure rigide amorphe, car elle a été identifiée comme le siège de phénomènes inflammatoires et de progéniteurs cellulaires capables de se différencier en CML pouvant migrer dans la media (Tedgui and Lévy, 1994; Wagenseil and Mecham, 2009).

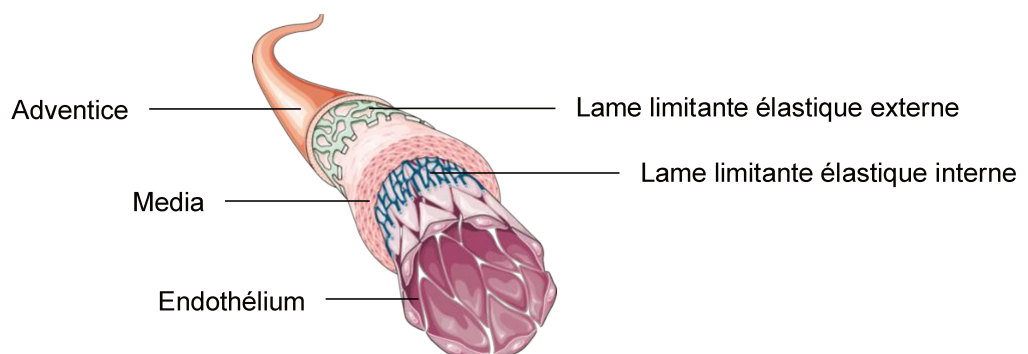


Figure 2. Organisation générale des artères

Cette architecture spécifique contribue ainsi aux propriétés mécaniques viscoélastiques des grosses artères (Dingemans et al., 2000). Ainsi, les fibres d'élastines de par leurs propriétés et leur organisation contribuent à la déformabilité de la paroi et à son caractère hautement résilient, permettant de restituer durant la diastole la majeure partie de l'énergie emmagasinée. Le nombre d'unités lamellaires est d'ailleurs proportionnel à la contrainte à laquelle est soumise le segment vasculaire, expliquant pourquoi les artères les plus proximales en sont très riches. A l'inverse, la présence quasi exclusive de collagène dans l'adventice lui confère une grande résistance mécanique à la déformation et empêche ainsi une rupture vasculaire à haute pression (Dobrin, 1978; Wolinsky and Glagov, 1967). Ceci explique également l'existence d'une relation non linéaire d'élasticité caractérisée par une rigidification de la paroi à haute pression. Enfin, à l'état physiologique, cette architecture contribue à une faible déperdition d'énergie lors de chaque cycle (Wagenseil and Mecham, 2009).

De plus, il existe un gradient dans l'organisation de la paroi artérielle, la proportion des fibres élastiques et d'élastine étant maximale dans l'aorte thoracique et diminuant à mesure que l'on s'éloigne du cœur (Apter Julia T. et al., 1966). A l'inverse, la proportion de CML et de collagène va augmenter dans les artères les plus distales expliquant ainsi le passage d'une fonction élastique à une fonction de résistance des artères à mesure que l'on passe des gros troncs artériels aux artérioles (Apter Julia T. et al., 1966; Bergel, 1961a).

Ainsi, on distingue classiquement :

- Les artères de résistance, distales, de petite taille (< 100-300 mm), de structure musculaire majoritaire, présentant un tonus myogénique et ayant une fonction de distribution,
- Les artères de conductance, proximales, de grande taille (3 cm à 2 mm) de structure élastique (musculo-élastique/musculaire) et ayant des fonctions d'amortissement (compliance) et de conduction (onde de pression/débit).

2. Fonction du système artériel

La fonction du système artériel est double. D'abord une fonction « conduit » permettant, en maintenant une pression artérielle élevée, de délivrer le sang oxygéné dans les différents organes selon leurs besoins, et une fonction d'amortissement qui va permettre de réduire la pulsatilité générée par le ventricule gauche et ainsi délivrer un flux quasi continu à basse pression dans les capillaires sanguins (Figure 3) (Nichols et al., 2011; O'Rourke and Hashimoto, 2007).

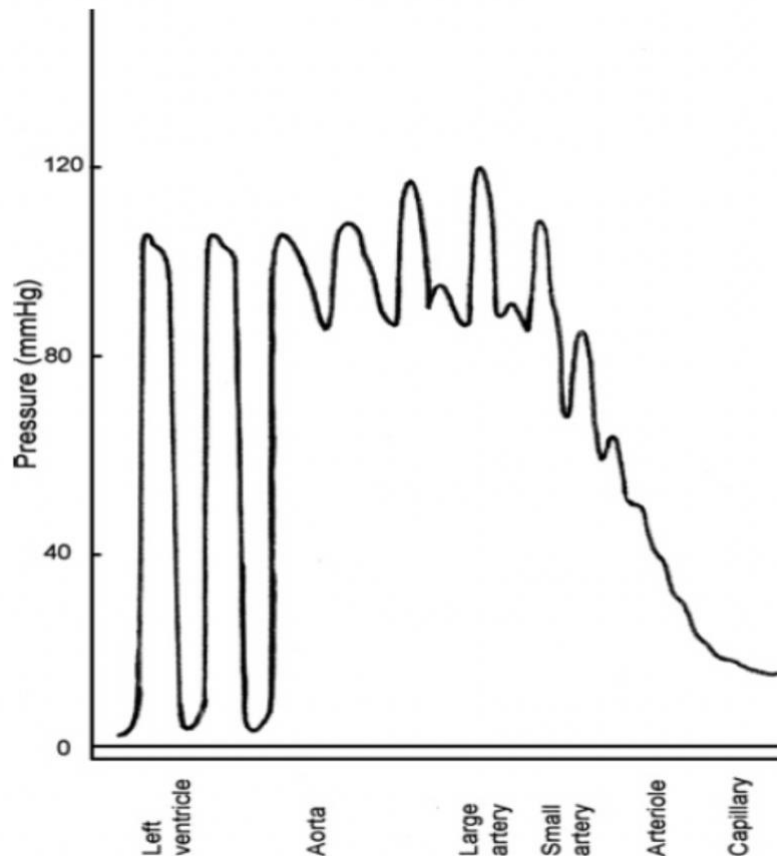


Figure 3. Variations physiologiques de la pression artérielle le long de l'arbre artériel.
D'après (O'Rourke and Hashimoto, 2007)

Ces fonctions sont assurées par les propriétés mécaniques des artères. Ainsi, lors de chaque cycle cardiaque l'augmentation de pression au sein de la paroi artérielle, transmise par le ventricule gauche, va aboutir à la dilatation des artères élastiques de gros calibre telles que l'aorte et ses branches de division. De façon parallèle, à chaque systole, une partie du flux sanguin va être "emmagasinée" pour être restituée au cours de la diastole. Cette fonction caractérisée par la compliance artérielle, permet à la fois une perfusion périphérique continue systolo-diastolique et l'amortissement de la pulsatilité du flux sanguin. Elle contribue

également à la perfusion coronaire en maintenant un flux en diastole, période durant laquelle le myocarde est relaxé et en phase de remplissage (Nichols et al., 2011).

A mesure que le contingent de CML et le ratio collagène/élastine augmentent et que le calibre artériel diminue, les artères au-delà des artères de conductance, vont devenir de plus en plus résistives. Ainsi, au niveau artériolaire, la pression artérielle et la pulsatilité de la pression vont s'effondrer. Finalement, au niveau capillaire, la pression et la vitesse vont atteindre des valeurs très faibles, quasiment non pulsatiles, de l'ordre de 15 à 30 mmHg (parfois plus dans certains organes tels que le rein) et de 0,5 mm/s (contre 0,5 à 1 m/s au niveau de l'aorte ascendante) respectivement (McDonald and Taylor, 1959). Ceci va permettre l'oxygénation des tissus, grâce à la structure fenêtrée de l'endothélium à ce niveau, sans lésion liée à la pulsatilité (Tedgui and Lévy, 1994).

3. Physiologie artérielle

Stephen Hales, a proposé en 1733 un modèle afin de décrire la physiologie du système artériel par analogie au réservoir d'air (« Windkessel », en allemand) qui équipait les pompes à bras utilisées contre les incendies. Globalement, à chaque systole, le volume d'éjection systolique va distendre la paroi artérielle des artères de conductance en commençant par l'aorte thoracique proximale. Les 2/3 du volume éjecté vont être stockés durant cette phase systolique et être restitués lors de la phase diastolique permettant en théorie d'aboutir à un flux laminaire à partir d'un flux pulsatile. Ce modèle théorique explique l'atténuation de la pulsativité de la pression et du flux entre la sortie du ventricule gauche et l'aorte mais ne permet pas de rendre compte de la réalité observée et notamment l'évolution de la forme de l'onde de pression tout au long des artères de conductance. Ainsi, d'autres modèles ont été proposés en particulier le modèle propagatif permettant de reproduire la forme de la pression observée aux différents niveaux de l'aorte et de ses principales branches de division (Bauer and Busse, 1977; Nichols et al., 2011). Ainsi, l'onde de pression générée par le ventricule gauche se propage le long de la paroi artérielle et génère de proche en proche un gradient de pression favorable à la propulsion du flux sanguin. De plus, cette onde de pression va se réfléchir en distalité sur différents sites de réflexion correspondant aux bifurcations et embranchements artériels et aux artérioles distales. Cette onde réfléchie va revenir vers le cœur et s'ajouter à l'onde incidente expliquant l'épaule observée dans l'onde de pression résultante (Figure 4 A et B) (London and Pannier, 2010; Nichols et al., 2011).

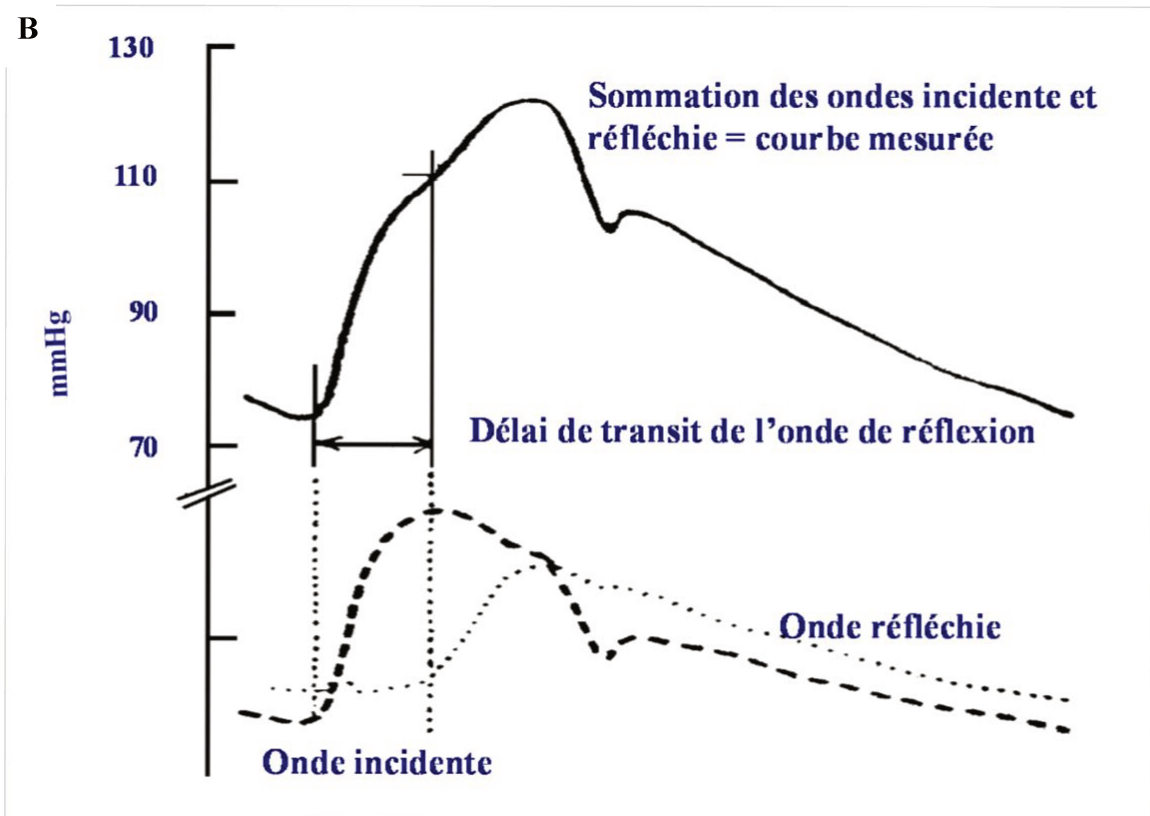
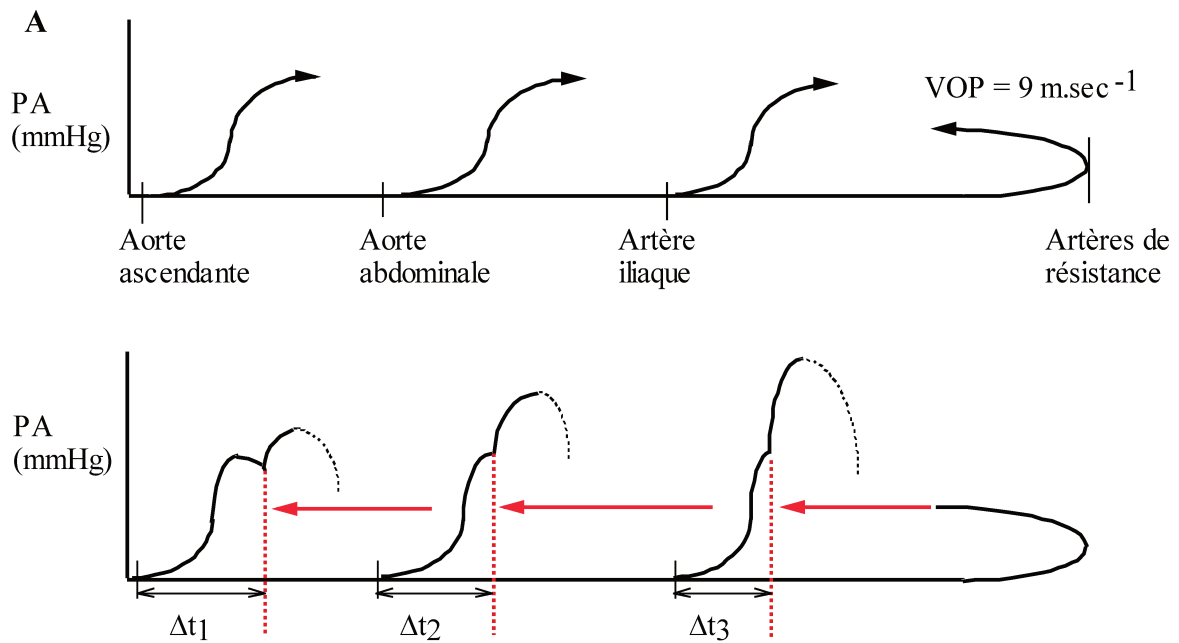


Figure 4. Somme des ondes antérograde et réfléchie à différents niveaux des artères de conductance (A). Onde de pression résultante de la somme des ondes antérograde et réfléchie (B).

Ainsi, les artères centrales, sujettes à une réflexion tardive, car éloignée des sites de réflexions, vont présenter une pression systolique moindre que les artères plus périphériques où la sommation de l'onde incidente et réfléchie est très précoce. Un gradient de pression systolique allant du centre vers la périphérie va s'établir, correspondant au phénomène d'amplification. Cette dernière permet la conservation de la pression artérielle moyenne (PAM) parallèlement à l'augmentation de la PP (Figure 5) (Safar, 2017; Vasan, 2008).

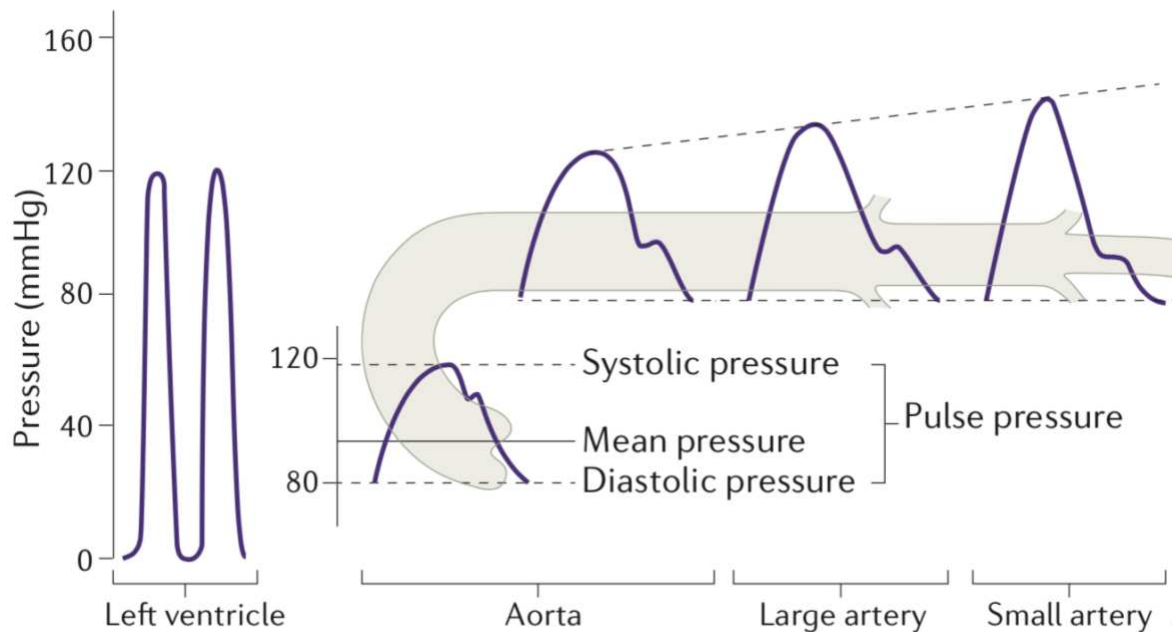


Figure 5. Amplification de la pression au niveau des artères de conductance.

D'après (Safar, 2017)

Le délai de retour et l'amplitude de l'onde de pression vont être influencés par la vitesse de propagation de l'onde de pression et la position des sites de réflexion. De plus le remodelage et la fibrose des territoires résistifs s'accompagne d'une augmentation de l'amplitude de l'onde réfléchie. Ce phénomène peut être majoré par la vasoconstriction des artères de conductance musculaires périphériques qui favorise la transmission de l'onde réfléchie. De façon aigue la vasoconstriction des territoires artériolaires mime un rapprochement des sites de réflexion. Enfin, la chronologie de la sommation des ondes antérograde et réfléchie est déterminante, la survenue de cette dernière en phase ascendante de la première potentialisant la sommation (Karamanoglu et al., 1994; Millasseau et al., 2006; Mitchell et al., 2004; O'Rourke M F and Avolio A P, 1980).

Parallèlement au maintien de la PAM, cette organisation va permettre également la baisse de la vitesse et de la pulsatilité du débit sanguin au cours de son trajet dans les artères proximales.

En effet, le sang animé d'une énergie cinétique impulsée par la contraction du ventricule va circuler vers la périphérie sous l'effet du gradient de pression généré de proche en proche le long de l'arbre artériel et intégrant les réflexions distales. De ce fait, alors que le gradient reste favorable à la propulsion antérograde le long de l'écoulement son amplitude diminue au fur et à mesure que l'onde réfléchie augmente la pression d'aval. Ainsi, alors que l'onde de pression circule à une vitesse en moyenne de l'ordre de 7 à 9 m/sec, la vitesse d'écoulement du sang dans les artères proximales ne dépasse généralement pas 1 m/sec et décroît depuis l'aorte initiale vers ses branches de division pour atteindre près de 0,4 m/sec au niveau des artères iliaques chez l'homme (Hirata et al., 2006; McDonald and Taylor, 1959).

Cette physiologie artérielle aboutit à un couplage cardiovasculaire efficient permettant la conservation de la pression moyenne, la propagation de la colonne sanguine et sa décélération tout au long des artères proximales. La moindre pression systolique observée dans les artères de conductance proximales comparés à distales permet d'opposer une post charge plus faible au ventricule gauche. De plus, le maintien d'une pression proto-diastolique élevée du fait d'une réflexion tardive au niveau central favorise la perfusion coronaire au moment de la relaxation myocardique (Milnor, 1990).

Ainsi, la pression artérielle systolique (PAS) dépend principalement de l'éjection ventriculaire gauche, de l'élasticité des gros troncs artériels, de l'onde de réflexion et dans une moindre mesure des résistances périphériques. A l'inverse, la pression artérielle diastolique (PAD) dépend majoritairement des résistances périphériques des petites artères et un peu de la rigidité de la paroi des gros troncs artériels.

4. Propriétés mécaniques artérielles

Les artères sont des structures cylindriques exposées à une PP responsable de leur déformation au cours du cycle cardiaque. Leur paroi est assimilable à des solides viscoélastiques, elles présentent donc des propriétés propres à ces matériaux. Pour étudier ces propriétés il nous faut aborder certains concepts propres à la mécanique des solides de façon générale.

a. Contrainte et déformation

La contrainte (σ ou « stress » en anglais) correspond à la force déformante exercée sur la paroi artérielle appliquée par unité de surface :

$$\sigma = F/S$$

où F la force déformante et S la surface sur laquelle la force s'exerce. Elle peut s'exercer de façon longitudinale, en traction ou en rétraction, aboutissant à un changement de longueur du solide, en compression ou en cisaillement.

Du fait du caractère cylindrique de l'artère et de l'application intra-luminale de la pression, la contrainte liée à la pression est tridimensionnelle : longitudinale (z), radiale (r) et circonférentielle (θ) (Figure 6). Dans cette situation, la pression externe tissulaire est considérée comme négligeable.

Les définitions de ces différentes contraintes sont les suivantes (dobrin 1978, mc donalds)):

- Contrainte longitudinale (force d'élongation) $\sigma_z = P \times (r_i^2 / (r_e^2 - r_i^2))$,
- Contrainte radiale (force de compression) $\sigma_r = -P/2$,
- Contrainte circonférentielle (force de distension) estimée par l'équation de Lamé $\sigma_\theta = Pr_i/h$, avec r_i le rayon interne, r_e le rayon externe, P la pression transmurale, et h l'épaisseur de la paroi.

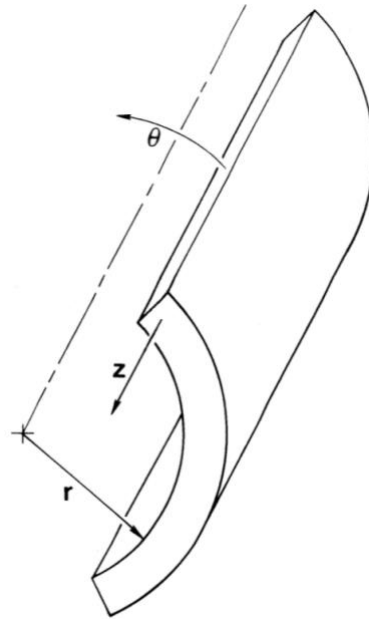


Figure 6. Contrainte et déformation d'un cylindre dans 3 dimensions.
D'après (Dobrin, 1978)

Les contraintes radiale et longitudinale représentent respectivement 5 et 50 % de la contrainte circonférentielle (Dobrin, 1978). L'utilisation de ces relations suppose que la paroi artérielle soit un matériau incompressible, homogène, isotrope, c'est à dire présentant les mêmes propriétés physiques dans toutes les directions et que la paroi des artères élastiques soit mince mais non négligeable, avec un rapport h/r_i compris entre 0,06 et 0,16 (Nichols et al., 2011). En effet, dans ce cas, on considère que la contrainte est la même de la face interne ($r = r_i$) à la face externe ($r = r_e$) de la paroi artérielle. Pour les artères à paroi plus épaisse (rapport $h/r_i > 0,15$), les contraintes circonférentielles et radiales augmentent de la face interne à externe de façon curvilinéaire (Doyle and Dobrin, 1973).

Afin d'intégrer ce phénomène, il a été proposé de calculer les contraintes à mi-épaisseur et de tenir compte de la contrainte radiale. Ainsi, les contraintes circonférentielle (σ_θ) et radiale (σ_r) en supposant de même une paroi isotrope et incompressible pour une artère à paroi épaisse sont (Timoshenko and Goodier, 1951):

$$\sigma_\theta = Pr_i^2(r_e^2+r_i^2)/r^2(r_e^2-r_i^2)$$

$$\sigma_r = -Pr_i^2(r_e^2-r_i^2)/r^2(r_e^2-r_i^2)$$

où r est le rayon à mi-épaisseur $r = (r_e+r_i)/2$

Ainsi, la contrainte résultante dans le plan sectionnel à mi-épaisseur est égale à :

$$\sigma = \sigma_{\theta} - (-\sigma_r) = 2P(r_i r_e / r) / (r_e^2 - r_i^2)$$

σ peut être utilisé pour construire les relations contrainte-module et contrainte-compliance qui permettent l'évaluation des propriétés mécaniques de l'artère à des niveaux connus de contrainte.

L'application d'une contrainte en traction ou rétraction à un solide aboutit à une déformation de type étirement (ε : élongation, « strain » en anglais) ou raccourcissement, exprimée en variation de longueur. Dans le cadre d'une contrainte de traction ou de rétraction, la déformation est exprimée par :

$$\varepsilon = (L - L_0) / L_0 = \Delta L / L_0$$

où L_0 est la longueur du tissu non contraint et L est la longueur mesurée du tissu lors de la traction.

L'allongement d'un solide s'accompagne d'un amincissement transversal de ce dernier. Ainsi, le coefficient de Poisson ν correspond au rapport entre les déformations transversales et longitudinales, tel que $\varepsilon_T = -\nu \varepsilon_L$ en traction simple où ε_T est la déformation transversale et ε_L la déformation longitudinale. Il est compris entre 0, dans ce cas la déformation longitudinale est nulle ou négligeable, et 0,5. Habituellement, il est considéré comme proche de 0,5 pour les artères ce qui suppose que le volume est conservé lors de l'étirement (Fung, 1993).

b. Relation contrainte-déformation

En mécanique des solides, la déformation des matériaux sous l'effet d'une force appliquée obéit à différents types de comportement. Ainsi, le comportement élastique pur correspond à un solide qui, lorsqu'on lui applique une force, se déforme mais qui retourne à l'état initial dès que la sollicitation cesse. Le modèle type d'élasticité linéaire est le ressort parfait, répondant à la loi de comportement de Hooke $F = kX$ où F est la force appliquée, X la déformation et k une constante d'élasticité. Afin de tenir compte de la forme du solide et de prendre en compte ses dimensions initiales, on exprime volontiers cette loi en utilisant la contrainte et l'élongation relative. Ainsi, pour un solide élastique parfait (et par extrapolation pour une artère), un module élastique de Young peut être calculé par le ratio entre la contrainte et l'élongation :

$$E = \sigma / \varepsilon$$

Il correspond à la force qu'il est nécessaire d'appliquer pour obtenir une déformation de 100 % à partir de la longueur initiale. Cette approche a été utilisée pour évaluer l'élasticité des différents éléments constitutifs de la paroi artérielle. Ainsi, le module de l'élastine est compris entre $1,5$ et $4,1 \cdot 10^6$ dynes/cm² bien plus faible que celui du collagène compris entre $0,3$ et $2,5 \cdot 10^{10}$ dynes/cm² (Dobrin, 1978). De même, in vitro, la contraction isométrique du muscle lisse génère entre $2,2$ et $2,8 \cdot 10^6$ dynes/cm² d'augmentation du module élastique, après ajustement sur la surface occupée par les CML (Dobrin, 1978).

D'un point de vue thermodynamique, dans le cas d'un comportement élastique parfait, lorsqu'un matériau élastique est étiré, le travail, produit d'une force et d'une longueur, fournit correspond à l'énergie "d'élongation". Cette énergie, restituée en totalité lors du retour à l'état initial, est également appelée "énergie élastique".

Cette relation, appropriée pour les matériaux purement élastiques et homogènes, n'est pas adaptée aux artères dont la relation contrainte-élongation est curvilinéaire du fait de leur composition complexe. Ainsi, le module n'est pas constant, il augmente avec l'étirement de la paroi. Dans ces conditions, un module incrémental a été proposé correspondant à la tangente à la relation contrainte/élongation en chaque point et donné par la relation :

$$E_{inc} = \Delta\sigma / \Delta\varepsilon.$$

L'intérêt de ce module incrémental est de réduire l'influence des dimensions initiales et ainsi de comparer la rigidité de la paroi d'artères dans des conditions de dimension et de pression différentes (Gow et al., 1974).

Ainsi, Bergel (Bergel, 1961a) a proposé pour une artère isotrope, incompressible dans des conditions d'étirement minime la formule suivante pour le calcul du module incrémental :

$$E_{inc} P_2 = [(P_3 - P_1) / (r_{e3} - r_{e1})] \times [2(1 - \nu_2) r_{i2} r_{e2} / (r_{e2} - r_{i2})]$$

où 1, 2 et 3 représentent les mesures successives de pression et de rayon lors de la déformation.

c. Évaluation des paramètres mécaniques artériels

Plusieurs paramètres sont utilisés pour évaluer les propriétés mécaniques artérielles.

i. Approche par la vitesse de l'onde de pression (VOP)

D'après la deuxième loi de Newton, la vitesse de propagation des ondes dans les solides est directement proportionnelle à la rigidité du solide. Ainsi, l'onde de pression artérielle se propage le long de la paroi artérielle à une vitesse directement proportionnelle au module élastique. La relation entre rigidité et vitesse est énoncée à partir de l'équation de Moens et Korteweg secondairement simplifiée par Bramwell et Hill (Bramwell and Hill, 1922) :

$$V^2 = 1/\rho D$$

où D est la distensibilité calculée telle que $D = 1/E_p$ avec E_p le module élastique.

La mesure de la vitesse de l'onde de pression peut être réalisée par la mesure de l'intervalle de temps (Δt , sec) qui sépare l'émergence de la pression en deux sites séparés de distance connues (L, m) telle que :

$$V = L/\Delta t$$

Il s'agit ici d'une rigidité segmentaire obtenue à partir de la VOP. Chez l'homme, elle est classiquement mesurée entre l'artère carotide et la fémorale par tonométrie d'aplanation soit de manière simultanée (Complior®) soit successivement en synchronisant les deux signaux de pression sur l'ECG (Sphygmocor®) (Laurent et al., 2006). Il s'agit d'un paramètre opérationnel qui tient compte des conditions de travail et qui nécessite la prise en compte du niveau de pression. La rigidité artérielle augmente en effet de façon passive avec le niveau de pression du fait de la mise en tension des éléments constitutifs de la paroi sous l'effet de cette dernière (The Reference Values for Arterial Stiffness', 2010; Vlachopoulos et al., 2015).

Avec le développement des systèmes d'échotracking vasculaires, il a été possible de mesurer en temps réel les variations de diamètre et d'épaisseur pariétale pour les artères superficielles. Le couplage avec une mesure de pression artérielle permet le calcul d'index sectionnels systolo-diastoliques. De plus, la mesure en continue de la pression au cours du temps permet le calcul d'index sectionnels instantanés et la construction de la relation pression-diamètre au cours du cycle cardiaque. Le développement des dispositifs de tonométrie artérielle a permis

d'abandonner l'emploi des pressions humérales au profit des courbes de pression obtenues localement ou depuis un site périphérique après application d'une fonction transfert validée pour ce site de mesure (Karamanoglu et al., 1993).

ii. Les index systolo-diastoliques

La compliance artérielle volumique est définie par la variation absolue de volume en réponse à une variation de pression et s'exprime par la formule :

$$C = \Delta V / \Delta P$$

où ΔV correspond à l'expansion volumique en réponse à l'augmentation de pression ΔP .

Au niveau artériel, toujours avec une hypothèse de matériau homogène, on exprime la compliance sectionnelle par unité de longueur comme :

$$C = \Delta LCSA / \Delta P$$

avec $\Delta LCSA$ les variations de surface de la lumière artérielle. $LCSA$ est calculée telle que $LCSA = \pi r_i^2$ où r_i est le rayon interne du vaisseau. On suppose alors que la déformation longitudinale par unité de longueur est négligeable par rapport à la déformation sectionnelle (Safar et al., 2014).

La compliance dépend cependant autant des propriétés mécaniques de la paroi que de la géométrie de la chambre artérielle. Ainsi, afin de caractériser la déformabilité de la paroi et non de la chambre artérielle dans sa globalité, on étudie volontiers la distensibilité volumique :

$$D = (\Delta V / V_0) \times 1 / \Delta P$$

où $\Delta V / V_0$ est l'expansion volumique relative et V_0 le volume artériel non contraint c'est-à-dire à pression transmurale et tonus nuls.

Dans la mesure où le volume artériel non contraint in vivo n'est pas accessible, l'évaluation de la distensibilité in vivo utilise les paramètres diastoliques à la place des paramètres non contraints. Ainsi, comme la compliance on peut exprimer la distensibilité sectionnelle par :

$$D = (\Delta LCSA / LCSA_d) \times 1 / \Delta P$$

où $LCSA_d$ est la surface artérielle en diastole. On peut noter que la compliance artérielle est égale au produit de la distensibilité par la section non contrainte $D \times LCSA_d = C$.

Ainsi, la performance de la chambre artérielle en termes de déformabilité dépend de sa section et de la rigidité pariétale. De ce fait, la dilatation de la chambre artérielle permet le maintien, dans une certaine mesure, de la compliance malgré l'augmentation de la rigidité de paroi, en particulier lors du vieillissement (Safar et al., 2014).

D'autre part, on peut également calculer le module élastique de Peterson E_P défini par l'inverse de la distensibilité volumique et qui caractérise la rigidité de la paroi (Peterson Lysle H. et al., 1960). Dans le plan sectionnel, il est exprimé tel que :

$$E_P = 1/D = (LCSA_d \times \Delta P) \times 1/\Delta LCSA$$

De même, le module élastique peut être estimé selon la formule de Young comme étant égal à :

$$E = \frac{3(1 + \frac{LCSA_d}{WCSA})}{D}$$

où WCSA est l'aire de la section de la paroi artérielle = $\pi r_e^2 - \pi r_i^2$, r_e étant obtenu par la moitié du diamètre externe d et r_i par $(d-2h)/2$ avec h l'épaisseur de paroi (Safar et al., 2014).

iii. Les index instantanés

Les index systolo-diastoliques ne donnent pas d'information concernant l'évolution du diamètre et de la pression entre les deux temps de mesure. Cette situation pourrait conduire à méconnaître des altérations précoces et modérées des propriétés mécaniques. Ainsi, comme nous l'avons vu précédemment, la rigidité artérielle augmente de manière curvilinéaire avec l'augmentation de pression. L'acquisition en continu des paramètres vasculaires au cours du temps permet au contraire l'évaluation des paramètres mécaniques artériels pour chaque niveau de pression mesuré. De plus, l'approche systolo-diastolique ne permet pas la modélisation de la relation pression-diamètre. En effet, du fait du caractère viscoélastique des artères, la relation pression-diamètre décrit une boucle d'hystérèse, le diamètre étant plus grand à même niveau de pression en diastole qu'en systole. Comme nous le verrons dans la suite de ce travail cette hystérèse correspond au phénomène de viscosité.

Plusieurs modèles curvilinéaires non hystérétiques ont été proposés dans la littérature pour tenir compte des particularités de cette relation pression-diamètre, mais le modèle arctangente, validé par Langewouters, in vitro semble être le plus adapté in vivo chez l'homme (Langewouters et

al., 1984; Tardy et al., 1991). Ainsi, les paramètres mécaniques au niveau radial ont été calculés dans ce travail au moyen de ce modèle.

La relation pression-section s'exprime à partir de la mesure instantanée de la pression et du diamètre interne :

$$S(P) = \alpha(\pi/2 + \text{tang}^{-1}(P - \beta/\gamma))$$

où $S = \pi d^2/4$, P est la pression artérielle et α , β et γ sont les trois constantes du modèle calculées par régression non linéaire à partir d'itérations successives.

La compliance sectionnelle instantanée, a alors été calculée comme étant égale à la dérivée de la relation par rapport à la pression :

$$C(P) = \delta S(P)/\delta P = (\alpha/\gamma)/[1 + ((P - \beta)/\gamma)^2]$$

Et la distensibilité sectionnelle instantanée est telle que :

$$D(P) = C(P)/\pi r_i^2$$

Ces relations peuvent être établies de façon répétée avec une grande reproductibilité (Laurent et al., 1993).

Le module incrémental de paroi est obtenu en utilisant le même modèle à partir de l'expression classique donnée par Bergel (Bergel, 1961a; Meister et al., 1992) :

$$E_{inc} = \frac{3}{8} \frac{d(d+2h)^2}{h(d+h)} \frac{\delta P}{\delta d} = \frac{3}{4D(P)} \frac{(d+2h)^2}{h(d+h)}$$

où d est le diamètre interne et h l'épaisseur à tout instant.

Cette expression suppose un matériau isotrope incompressible et la mesure de l'épaisseur de la paroi artérielle.

5. Déterminants des propriétés mécaniques artérielles

Les propriétés mécaniques des artères sont déterminées par les différents composants de la paroi (Wagenseil and Mecham, 2009), par la géométrie de l'artère et par les conditions de travail auxquelles elles sont soumises (Joannides et al., 1995a; Safar et al., 2014). Par ailleurs, on distingue des propriétés passives relatives aux composants de la MEC, au contenu en CML mais également au maillage de ces composants entre eux et à leur recrutement à différents niveaux de pression, et des propriétés actives en lien avec le tonus musculaire.

Ainsi, à faible niveau de pression, la distension artérielle va principalement être due aux propriétés des fibres d'élastine de la MEC alors qu'à haut niveau de pression le recrutement des fibres de collagènes, plus rigides va limiter l'extension de l'artère. La pression artérielle, est un déterminant majeur des propriétés mécaniques artérielles et la connaissance du niveau de pression auquel est soumis l'artère est un élément indispensable à l'étude des propriétés mécaniques artérielles (Safar et al., 2014).

Le deuxième paramètre à prendre en compte est la géométrie artérielle pouvant être caractérisée par le rapport rayon artériel/épaisseur pariétale. En effet, à pression égale, la géométrie détermine la distribution spatiale de la pression sur la paroi. Ainsi, la contrainte pariétale définie par la force appliquée par unité de surface pariétale exprime les conditions de travail mécanique auxquelles sont soumises les artères (Joannides et al., 1995a).

Enfin, le tonus musculaire participe à la régulation active des propriétés mécaniques. Ainsi, il a été montré que l'activation sympathique isométrique entraîne une augmentation du module élastique, *in vitro* (Dobrin and Rovick, 1969). Chez l'homme, la diminution du tonus musculaire lisse par l'administration locale intra-artérielle de nitroglycérine entraîne, à pression constante, une baisse de la VOP, une augmentation de la compliance de l'artère brachiale, une augmentation du diamètre et une stabilité du module E_{inc} (Bank et al., 1995). La norépinephrine a pour sa part des effets totalement inverses (Bank et al., 1995). La contribution des CML à ce phénomène a été identifié au niveau de l'artère brachiale à l'aide de modélisation théorique (Bank et al., 1996). La relative stabilité du module ne doit cependant pas faire conclure à tort sur l'absence d'effet du tonus musculaire sur la rigidité intrinsèque de la paroi. En effet, la notion d'isométrie est majeure car l'activation sympathique aboutit à une réduction du diamètre artérielle et donc un épaissement pariétal qui, lorsqu'il est suffisamment important (estimé à 8% au niveau des artères musculaires), entraîne une baisse de la contrainte pariétale (Joannides et al., 1995a). Dans ces conditions, la baisse de la contrainte pariétale mais également le recrutement (inverse) des éléments les plus élastiques de la paroi, lié à la vasoconstriction,

s'oppose à l'augmentation de rigidité liée à la contraction des CML expliquant la stabilité voire la baisse du module (Joannides et al., 1995a).

La régulation active du tonus musculaire lisse résulte en grande partie de l'interaction entre l'influence du système sympathique adrénérgique et des substances vasodilatatrices ou vasoconstrictrices libérées localement par l'endothélium vasculaire. L'écoulement sanguin est responsable d'une force de cisaillement qui s'applique à la face interne de la paroi artérielle. Chez l'animal comme chez l'homme, l'augmentation du débit sanguin s'accompagne physiologiquement d'une augmentation du diamètre artériel (Joannides et al., 1995b; Lie et al., 1970; Pohl et al., 1986). Ce phénomène de dilatation débit-dépendante s'explique par la réponse endothéliale au cisaillement et la libération de facteurs relaxants d'origine endothéliale, en particulier de NO aux faibles durées de stimulation (Joannides et al., 1995b). De plus, à même niveau de contrainte pariétale, une augmentation de la contrainte de cisaillement est responsable d'une baisse du module élastique et d'une augmentation de la compliance alors qu'une diminution entraîne une augmentation de la rigidité pariétale (Joannides et al., 2001). Ainsi, la caractérisation de l'écoulement et l'évaluation du cisaillement sont majeures pour comprendre le rôle physiologique de la stimulation endothéliale et les conséquences d'une variation de ces dernières.

6. Rhéologie et force de cisaillement

Comme nous l'avons vu, les propriétés mécaniques artérielles dépendent de la structure de la paroi, mais également du tonus vasculaire dont une partie de la régulation passe par le cisaillement pariétal.

La loi de conservation du débit nous indique que la vitesse d'écoulement (v) est inversement proportionnelle à la section traversée (S), à débit volumique constant (Q) (Milnor, 1990) :

$$v = Q/S$$

Cependant, la vitesse d'écoulement n'est pas constante dans toute la lumière. En effet, la viscosité sanguine et les forces de frottement au niveau de la paroi sont responsables, dans une artère rectiligne sans bifurcation ni branches collatérales, d'un profil d'écoulement parabolique, lent à la paroi et rapide au centre de la lumière vasculaire. Dans ces conditions et en considérant le sang comme un fluide parfait (incompressible, homogène et de viscosité constante), l'écoulement est considéré comme laminaire et le débit répond à la loi de Poiseuille :

$$Q = \pi r^4 (P_1 - P_2) / 8 \mu L$$

où Q est le débit, r le rayon caractérisant la section d'écoulement, $(P_1 - P_2)/L$ est le gradient longitudinal de pression et μ la viscosité sanguine.

Classiquement, on caractérise l'écoulement laminaire par sa variation de vitesse le long du rayon depuis la paroi. Cela correspond au gradient de vitesse ou taux de cisaillement (« shear rate ») :

$$\gamma = \delta v / \delta r$$

Le gradient de vitesse à la paroi détermine la contrainte de cisaillement, c'est à dire la force qui s'exerce tangentiellement à la paroi dans le sens de l'écoulement et qui dépend également de la viscosité sanguine μ . Elle se calcule ainsi :

$$\tau = \mu \gamma = \mu \cdot \delta v / \delta r \quad (a)$$

Pour un écoulement au profil parabolique et répondant à la loi de Poiseuille, l'expression devient la suivante et caractérise le cisaillement pariétal moyen au cours du temps pour des valeurs données de Q et r (Nichols et al., 2011) :

$$\tau = \mu\gamma = 4\mu Q/\pi r^3$$

A partir de la loi de Poiseuille on déduit donc :

$$Q = v\pi r^2 = \pi r^4(P_1-P_2)/8\mu L$$

$$v = r^2(P_1-P_2)/8\mu L \quad (b)$$

Donc :

$$\delta v/\delta r = r(P_1-P_2)/8\mu L$$

A partir des expressions (a) et (b) on déduit :

$$\tau = \mu.\delta v/\delta r = 2\mu v/r$$

Ainsi, en présence d'un profil d'écoulement parabolique, $\delta v/\delta r$ est maximal au centre de la lumière et nul au contact de la paroi. La mesure de la vitesse sanguine au centre de la lumière et du rayon est donc un indicateur du profil de vitesse $\delta v/\delta r$ établi depuis la paroi jusqu'au centre du vaisseau (Chatzizisis et al., 2007).

Les contraintes de cisaillement moyenne et systolique peuvent être calculées en utilisant les valeurs de vitesse et de rayon durant la totalité du cycle cardiaque ou en systole respectivement. De façon classique, le calcul du taux de cisaillement repose sur l'utilisation de la loi de Poiseuille et la mesure de la viscosité sanguine in vitro par viscosimétrie à haute vitesse de cisaillement (Baieth, 2008). Ainsi, les méthodes les plus utilisées font appel à la mesure de la vitesse sanguine par Doppler couplée à la mesure du diamètre artériel à haute résolution. L'hypothèse d'un écoulement laminaire d'un fluide parfait peut être acceptée au sein des artères de conductance rendant possible l'utilisation de la loi de Poiseuille.

7. Régulation endothéliale des propriétés mécaniques artérielles

Comme nous l'avons vu, la fine couche de cellules endothéliales tapissant la face interne de la paroi de l'ensemble du système vasculaire, est le senseur des modifications de cisaillement. A la suite des travaux de Furchgott et Zawadzki, qui ont démontré que l'acétylcholine entraînait la relaxation d'anneaux aortique en présence d'un endothélium intact, le rôle central de cette couche cellulaire dans la régulation du tonus vasculaire, de l'inflammation, de la perméabilité, du remodelage vasculaire, de l'agrégation plaquettaire et de la coagulation ainsi que dans le contrôle de l'angiogenèse a été progressivement démontré (Furchgott and Zawadzki, 1980; Vanhoutte et al., 2017).

La régulation de ces fonctions passe par des stimuli mécaniques et chimiques variés, des voies de signalisation complexes et la libération de substances ayant des effets locaux notamment sur la vaso-réactivité (Vanhoutte et al., 2017).

La contrainte exercée par le flux va générer, par l'intermédiaire d'une mécanotransduction, des réponses aigues et chroniques permettant l'adaptation de la géométrie et de la trophicité vasculaire aux conditions rhéologiques. Cette mécanotransduction s'exerce par des structures membranaires sensibles à la déformation mécanique (Ando and Yamamoto, 2009; Zhou et al., 2014). Ce mécanisme s'oppose aux variations de calibre d'origine neurogène ou myogénique. Ce phénomène de dilatation débit-dépendante représente un mécanisme fondamental d'adaptation du diamètre des vaisseaux de gros calibre au débit sanguin. Il contribue à l'autorégulation des débits régionaux et à l'adaptation de la conductance artérielle lors de l'exercice en maintenant la contrainte de cisaillement pariétale dans les limites physiologiques (Johnson et al., 2011; Koller and Kaley, 1991).

a. Les effecteurs de la réponse endothéliale

i. Le monoxyde d'azote

Ce facteur est un des premiers facteurs relaxants dérivés de l'endothélium mis en évidence et probablement le plus important. Son caractère gazeux lui confère des propriétés de diffusion tissulaire importantes et une demi-vie courte. Sa modulation est fortement liée au niveau des forces de cisaillement exercées sur l'endothélium mais d'autres substances endogènes ont été identifiées comme étant capables d'activer les récepteurs endothéliaux impliqués dans la libération de NO. Ces substances sont des hormones circulantes telles que les catécholamines ou la vasopressine, des autacoïdes émanant de la paroi vasculaire ou d'éléments figurés du sang

(bradykinine, histamine, substance P), des substances d'origine plaquettaire (sérotonine ou ADP) ou liées à la coagulation telles que la thrombine (Vanhoutte et al., 2016).

Le NO est produit par une famille de 3 enzymes appelées NO-synthases (NOS). La NOS endothéliale (eNOS ou NOS de type III ou NOS constitutive) est la source majeure de NO au niveau endothélial. La NOS inductible (iNOS ou NOS de type II) peut être activé par des cytokines, inflammatoires notamment et la NOS neuronale (nNOS ou NOS de type I) est retrouvée dans le vaisseau et serait responsable de la libération de 50 % du NO basal, mais son rôle dans la sécrétion stimulée de NO en particulier lors de la dilatation débit-dépendante serait négligeable/nul (Seddon et al., 2009; Shabeeh et al., 2013; Vanhoutte et al., 2016).

L'eNOS est retrouvée au niveau de microdomaines membranaires appelées cavéoles. En réponse aux substances endogènes précédemment citées ou aux forces de cisaillement exercées sur l'endothélium, elle va être activée par des mécanismes calcium-dépendants ou des modifications post traductionnelles de type phosphorylation-déphosphorylation (Fleming, 2010). Ainsi, la production de NO par la cellule endothéliale est régulée à la fois à l'état basal mais aussi après stimulation notamment par une augmentation de débit (Fisslthaler et al., 2000). L'activation de l'eNOS va permettre la transformation de L-arginine en présence d'oxygène, et de divers cofacteurs tels que la tétrahydrobioptérine (BH₄), en L-citrulline et NO. Les grandes propriétés de diffusion du NO vont lui permettre d'atteindre facilement le muscle lisse vasculaire et la lumière vasculaire. Le NO agit majoritairement comme un puissant relaxant du tonus musculaire lisse (Vallance et al., 1989). En plus de ses effets vasodilatateurs directs, le NO module les effets des facteurs hyperpolarisants dérivés de l'endothélium (EDHF) et prévient les effets de certains facteurs endothéliaux vasoconstricteurs tels que l'endothéline-1 (ET-1). Le rôle du NO ne se limite pas à des effets sur le diamètre artériel, il inhibe également la prolifération des CML, l'oxydation des LDL, l'agrégation plaquettaire et l'expression des molécules d'adhésion à la surface de l'endothélium, limitant ainsi l'adhésion et la pénétration leucocytaire et macrophagique. Il participe aussi à l'activité mitochondriale, notamment par la régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et du métabolisme respiratoire (Vanhoutte et al., 2017).

ii. Les eicosanoïdes

D'autres facteurs sont impliqués dans la régulation endothéliale du tonus vasculaire. Parmi eux les produits issus du métabolisme de l'acide arachidonique constituent une des voies majeures

de régulation endothéliale. Ainsi, la bradykinine ou l'activation des récepteurs A₂ de l'adénosine vont entraîner l'augmentation de la concentration de calcium intracellulaire résultant en l'activation de phospholipases telles que la phospholipase A₂ (PLA₂). L'acide arachidonique, provenant des phospholipides membranaires, ainsi libéré va être métabolisé par 3 voies enzymatiques principales :

La voie des cyclooxygénases (COX) aboutit à la production de prostacycline (PGI₂), mais également de facteurs vasoconstricteurs tels le thromboxane A₂ ou les endopéroxydes. La COX-1 est constitutive de la cellule endothéliale alors que la COX-2 est inductible notamment au cours de l'inflammation. Comme le NO, la PGI₂ a une demi-vie courte et induit la relaxation de la cellule musculaire lisse (Moncada et al., 1976; Schrör, 1993).

La voie du CYP450 : La constatation de la capacité de l'acide arachidonique à induire une hyperpolarisation des CML malgré la présence d'inhibiteurs de la PLA₂, a amené à la découverte d'une voie non-NO ou COX-dépendante faisant intervenir des EDHF. L'utilisation d'inhibiteur des CYP450 tel que le clotrimazole ou le fluconazole a permis d'identifier que les métabolites actifs de l'acide arachidonique étaient responsables des effets vasodilatateurs observés. Les CYP450 sont une famille de complexes multienzymatiques membranaires capable d'oxyder, de peroxyder ou de réduire un grand nombre de dérivés lipidiques. Ainsi, les CYP450 2B, 2C (9 en particulier) et 2J2 génèrent des époxydes vasodilatateurs appelés acides époxyeicosatriénoïques (5,6-EET, 8,9-EET, 11,12-EET et 14,15-EET). A l'inverse, certaines enzymes de la CML de la famille des CYP450 4A produisent des acides hydroxyeicosatétraénoïques, tels les 19- ou 20-HETE, responsable d'une vasoconstriction. Ces EETs vont être rapidement et principalement hydrolysés par l'époxyde hydrolase soluble (sEH) en acides dihydroxyeicosatriénoïques (DHET), moins actifs (Imig, 2016).

De manière intéressante, l'activité des CYP450 ainsi que celle de la sEH pourraient être modulées par le NO expliquant pourquoi les EETs semblent constituer un système compensatoire lorsque la biodisponibilité du NO devient insuffisante (Bellien and Joannides, 2013).

Les EETs exercent leurs effets vasodilatateurs par l'activation de canaux potassiques calcium-dépendants (K_{Ca}) au niveau des cellules endothéliales et des CML par un mécanisme direct en diffusant hors des cellules ou passant par un récepteur (non identifié pour le moment, possiblement couplé aux protéines G) (Bellien and Joannides, 2013). L'activation des canaux

K_{Ca} de grande conductance (BK_{Ca}) de la CML induit une hyperpolarisation secondaire à la sortie des ions K⁺ empêchant l'ouverture des canaux calciques voltages-dépendants entraînant ainsi la relaxation de la CML. Les canaux BK_{Ca} peuvent également être activés par d'autres facteurs endothéliaux hyperpolarisants tels que le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) ou le NO.

La voie des lipoxygénases (LOX) est la troisième voie de métabolisation de l'acide arachidonique au niveau endothélial produisant des HETE puis des leucotriènes, hépoxillines ou lipoxines ayant un rôle dans les processus inflammatoires mais également vasomoteurs.

iii. L'endothéline-1 (ET-1)

Il s'agit d'un peptide synthétisé par les cellules endothéliales par l'enzyme de conversion de l'endothéline à partir de la pré-endothéline. C'est l'isoforme la plus abondante au niveau cardiovasculaire. L'ET-1 interagit avec 2 récepteurs couplés aux protéines G, ET_A et ET_B. Ces 2 récepteurs sont situés sur la CML et ont une activité vasoconstrictrice, proliférative et hypertrophiante. Cependant au niveau artériel, ET_B est majoritairement exprimé au niveau de la cellule endothéliale ou ses effets sont opposés aux effets musculaires, la stimulation du récepteur entraînant la libération NO et un rétrocontrôle négatif sur la production d'ET-1. L'élimination de l'ET-1 est rapide par l'endopeptidase neutre, la déamidase, et la fixation à l'ET_B qui agit comme un récepteur clairance (Sandoval et al., 2014).

La production d'ET-1 est stimulée par l'angiotensine II, la thrombine ou l'hypoxie et inhibée par le NO, la PGI₂ ou par l'augmentation prolongée des forces de cisaillement (Vanhoutte et al., 2017).

b. Principales méthodes cliniques d'exploration de la fonction endothéliale

Plusieurs méthodes d'explorations sont actuellement utilisées pour évaluer la fonction endothéliale. Elles ont permis d'étudier les mécanismes de la dysfonction endothéliale et de démontrer son rôle dans l'apparition et le développement des maladies cardiovasculaires. Actuellement, l'exploration clinique de la fonction endothéliale se fait selon deux grands types de tests : soit par des tests fonctionnels qui étudient de façon directe l'endothélium d'un segment vasculaire donné, soit par le dosage biologique de facteurs circulants qui témoignent de l'intégrité ou de l'activité de l'endothélium vasculaire

i. Méthodes fonctionnelles par stimulation endothéliale pharmacologique

Ces méthodes utilisent l'administration locale de substances telles que l'acétylcholine, la substance P ou la bradykinine dont les effets vasomoteurs sont liés au fonctionnement de l'endothélium. En effet la fixation de ces substances à leurs récepteurs endothéliaux induit la libération de facteurs d'origine endothéliale comme le NO qui va relaxer la CML sous-jacente. Cet effet est comparé à celui de l'administration d'un donneur exogène de NO, comme le nitroprussiate de sodium (SNP), ou d'adénosine, vasodilatateur direct non-NO dépendant, qui, en agissant directement sur la CML, permettent d'attester de l'intégrité de la réponse musculaire lisse (Flammer et al., 2012).

De plus, l'administration locale de ces substances à des doses ne s'accompagnant pas d'effets hémodynamiques systémiques ou de stimulation du système nerveux central, permet l'étude de l'endothélium dans son environnement physiologique et en l'absence d'éventuels effets confondants liés aux modifications de la pression artérielle ou du tonus neurogène central.

Ainsi, on évalue volontiers la fonction endothéliale vasomotrice des artères de résistance périphériques par l'effet de ces substances sur la résistance vasculaire de l'avant-bras, calculée au moyen de la mesure du débit local et de la pression artérielle systémique. La mesure du débit sanguin de l'avant-bras peut être réalisée par pléthysmographie (Benjamin et al., 1995) ou par effet Doppler couplée à un système d'écho-tracking haute résolution pour la mesure du diamètre vasculaire (Hayoz et al., 1997).

Au niveau coronaire, on peut également évaluer les effets de l'administration d'acétylcholine lors du cathétérisme cardiaque sur le diamètre ou le débit coronaire obtenus par angiographie quantitative ou échographie intra vasculaire. Certains auteurs ont évalué les variations de diamètre coronaire après avoir utilisé d'autres stimuli plus physiologiques basés sur l'augmentation du débit coronaire, tels que l'exercice, la tachycardie induite par l'entraînement électrique cardiaque, voire le stress psychique (Flammer et al., 2012; Yeung et al., 1991).

D'autres méthodes non invasives de mesure du débit sanguin coronarien ont été utilisées telles que la tomographie par émission de positrons, la scintigraphie myocardique de perfusion, l'échographie trans-thoracique ou le BOLD-IRM qui évalue le niveau d'oxygénation tissulaire en imagerie par résonance magnétique fonctionnelle (Flammer et al., 2012).

L'administration transcutanée par un champ électrique, appelé iontophorèse, de substances vasodilatatrices endothélium-dépendantes a été utilisée pour évaluer la fonction endothéliale des artères de résistance cutanées in vivo. La mesure du débit au niveau des artères du derme est alors réalisée par laser Doppler (Puissant et al., 2014a).

De même, l'évaluation de la fonction endothéliale des artères de conductance est possible par l'administration locale de ces substances et la mesure des variations de diamètre artériel par des

systèmes d'écho-tracking haute résolution (Joannides et al., 1995c). L'analyse des effets de ces substances doit cependant tenir compte des augmentations de débit au niveau des artères de conductance secondaires à la vasodilatation artériolaire induite par ces substances en aval du site de mesure.

Une autre solution consiste à administrer localement des substances vasorelaxantes (papavérine ou adénosine) ayant un effet essentiellement artériolaire d'aval pour évaluer l'endothélium des artères de conductance au moyen du phénomène de dilatation débit-dépendante (Drexler et al., 1989). Ainsi, l'intégrité de l'endothélium est confirmée par la vasodilatation observée secondairement à l'augmentation de débit sanguin et à la libération de substances vasorelaxantes par l'endothélium. Ces substances, dont l'effet sur les CML artériolaires est prédominant, sont administrées à faibles doses n'entraînant pas d'effets systémiques ou de stimulation du système nerveux central. Ces méthodes, utilisées pour l'étude de la dilatation débit-dépendante des artères coronaires épicaudiques, sont peu utilisées au niveau périphérique du fait de leur caractère invasif et de la possibilité d'utiliser des méthodes physiques d'augmentation du débit-régional (Drexler et al., 1989).

ii. Méthodes fonctionnelles par stimulation endothéliale physiologique/mécanique

Ces méthodes, essentiellement utilisées pour l'étude de l'endothélium des artères de conductance, reposent sur le phénomène de dilatation débit-dépendante. Elles utilisent un stimulus physique, i.e. l'ischémie dans l'hyperémie post-ischémique, l'augmentation des besoins métaboliques cardiaques sous l'effet de la stimulation sympathique pour le territoire coronaire lors du test au froid ou l'augmentation de la température cutanée locale pour le chauffage cutané distal, pour induire une diminution des résistances vasculaires régionales en aval du site de mesure du diamètre de l'artère de conductance étudiée. Ainsi, la vasodilatation artériolaire d'aval va induire une augmentation du débit local artériel en amont qui va stimuler l'endothélium et induire la libération de facteurs endothéliaux vasorelaxants. L'amplitude de la dilatation débit-dépendante est généralement comparée à celle obtenue en réponse à l'administration sublinguale d'un donneur exogène de NO (Joannides et al., 2006b).

La mesure des variations de diamètre sont réalisées par imagerie haute résolution : échotracking vasculaire haute-résolution pour les artères de conductances périphériques ou angiographie couplée à l'analyse d'image pour les artères coronaires épicaudiques. La réponse vasodilatatrice en cas de stimulus pharmacologique ou physique est de l'ordre de 10 % au niveau de l'artère

radiale (200 à 300 μm) ou coronaire épicaudique. Elle peut atteindre 30 % après l'administration de trinitrine (Joannides et al., 2001).

Le test au froid est réalisé en immergeant la main dans la glace fondante. La stimulation aiguë du système sympathique consécutive à la douleur provoquée induit une augmentation de la pression artérielle systémique et de la consommation myocardique d'oxygène. En conséquence, on observe une augmentation des besoins métaboliques au niveau cardiaque et la libération artériolaire de substances vasodilatatrices, telles que l'adénosine, aboutissant à un effondrement de la résistance artériolaire et à une augmentation du débit par autorégulation du débit coronaire (Nabel et al., 1988). Apparaît alors une vasodilatation des artères de conductances épicaudiques desservant ces territoires, liée en grande partie au phénomène de dilatation débit-dépendante. Les effets systémiques et la vasoconstriction directe induite par l'activation du système sympathique limitent l'utilisation de cette méthode pour l'étude des artères de conductance musculaires périphériques, comme l'artère radiale.

L'hyperémie post-ischémique est essentiellement appliquée à l'étude de la dilatation débit-dépendante des artères de conductance des membres supérieurs et inférieurs (Joannides et al., 1995b; Laurent et al., 1990). Elle consiste en la réalisation d'une ischémie, par la mise en place d'un brassard pneumatique gonflé à une pression supérieure à la pression systolique en aval du site de mesure du diamètre artériel (au niveau du poignet lors de l'étude de la dilatation débit-dépendante radiale et humérale et à l'extrémité inférieure de la cuisse lors de l'étude de la dilatation débit-dépendante de l'artère fémorale commune). Cette ischémie est responsable de l'effondrement de la résistance vasculaire d'aval. Elle est généralement bien tolérée malgré des durées d'ischémie pouvant atteindre 15 minutes. La levée brusque de l'ischémie va restaurer la continuité entre les segments vasculaires d'amont, à haute résistance, et le compartiment d'aval, à faible résistance, réalisant une hyperémie permettant l'étude de la dilatation débit-dépendance de l'artère de conduction évaluée.

Le chauffage cutané distal permet, contrairement à l'hyperémie post-ischémique, l'augmentation soutenue et progressive du débit du membre par paliers stables (Bellien et al., 2006a; Joannides et al., 2001, 2002). L'augmentation de la température cutanée de la main induit une vasodilatation artériolaire cutanée responsable d'une diminution de la résistance régionale et donc d'une augmentation du débit artériel régional d'amont. Cette méthode est réalisée en immergeant la main dans de l'eau contenue dans un dispositif thermostaté. Ces effets apparaissent dès que la température cutanée dépasse la température de thermoneutralité, comprise entre 32 et 34°C et atteint sa valeur maximale à 42°C. L'augmentation progressive de

la température et l'immersion d'une faible masse corporelle (la main) n'entraîne pas d'effet systémique pressur. De plus, il est possible de calculer la contrainte de cisaillement grâce à la mesure simultanée du diamètre et de la viscosité sanguine. Ainsi, la méthode de chauffage cutané distal permet d'effectuer ces différentes mesures à chaque palier de chauffage, de construire la relation contrainte de cisaillement vasculaire-diamètre artériel et donc d'évaluer le véritable stimulus de l'endothélium. Il est donc possible de comparer des patients hétérogènes en termes de diamètre, de débit ou de viscosité initiale mais aussi d'évaluer l'effet de substances pharmacologiques sur ces paramètres. Enfin, malgré une moindre augmentation de débit (300% vs. 500%) lors du chauffage cutané distal comparé à l'hyperémie post ischémique, le caractère prolongé de l'augmentation de débit induit une augmentation de diamètre plus importante (20% vs. 10%) faisant de cette méthode une méthode de choix pour l'évaluation de la dilatation débit-dépendante (Joannides et al., 2002).

Plus récemment une méthode non invasive basée sur l'analyse de l'onde de pression digitale a été proposée. Cette méthode appelée endoPAT (Itamar Medical®) est peu influencée par l'observateur et utilise la mesure des variations de volume du doigt cycle par cycle lors de l'hyperémie post ischémique par pléthysmographie digitale. Le dispositif est équipé de 2 pléthysmographes : un du côté étudié et l'autre sur un des doigts de la main controlatérale permettant d'obtenir un contrôle. Une contre-pression est appliquée par le dispositif au niveau de chaque doigt empêchant la distension veineuse distale et donc l'accumulation veineuse et les réponses réflexes veino-artériolaires. L'étude de la fonction endothéliale est rendue possible par la mesure de l'augmentation du volume digital pulsatile avant et après une ischémie de 5 minutes par un brassard de pression en amont de la mesure digitale. La déflation du brassard induit une hyperhémie. Un des avantages de cette technique est la possibilité d'ajuster les résultats en fonction des résultats du côté contrôle et donc de prendre en compte d'éventuels effets systémiques. Cet index est utilisé pour l'étude de la fonction endothéliale bien que l'augmentation d'amplitude de l'onde après l'hyperhémie post ischémique ne soit que partiellement NO-dépendante. Cet index est cependant corrélé à la dilatation endothélium-dépendante des artères de l'avant-bras comme à l'étude de la microcirculation coronaire et s'avère prédictif des événements cardiovasculaires (Bonetti et al., 2004; Rubinshtein et al., 2010).

iii. Facteurs circulants

La mesure des facteurs circulants libérés par l'endothélium ou impliqués dans la régulation de son activité, présente l'avantage d'être relativement simple à réaliser en recherche clinique car basée essentiellement sur des dosages sanguins ou urinaires. Les principales méthodes utilisées sont immunologiques ou utilisent des techniques plus récentes de spectrométrie de masse. D'autres approches sont également disponibles comme l'isolement de cellules endothéliales circulantes, de progéniteurs endothéliaux ou de microparticules d'origine endothéliale (Burger et al., 2012; Lekakis et al., 2011).

Classiquement, les dosages réalisés sont ceux des métabolites reflétant la biodisponibilité des facteurs endothéliaux vasodilatateurs tels que les nitrites pour le NO ou la 6-kéto PGF1 α pour la prostacycline. Plus récemment, la mesure des EETs et de ses métabolites a été rendue possible par le développement des méthodes de chromatographie et de détection par spectrométrie de masse (Duflot et al., 2019). Les substances vasoconstrictrices peuvent également être évaluées : l'ET-1, l'angiotensine II, le thromboxane A₂, les radicaux libres de l'oxygène et la prostaglandine H₂. En plus des facteurs vasoactifs, les marqueurs de l'hémostase comme l'activateur tissulaire du plasminogène, l'inhibiteur de l'activateur du plasminogène, le facteur Von Willebrand, et la thrombomoduline ; de l'inflammation tels que la protéine C-réactive, les molécules d'adhésion intercellulaire et vasculaire, les interleukines 6 et 8 et le TNF α ; ou l'inhibiteur compétitif endogène de la L-arginine, la diméthylarginine asymétrique (ADMA) peuvent être mesurés (Lekakis et al., 2011; Puissant et al., 2014b). De même, des facteurs impliqués dans la perméabilité endothéliale tels que le VEGF ou la VE-Cadhérine soluble peuvent également être mesurés (Gavard, 2013).

c. Rôles des facteurs endothéliaux dans la régulation de la mécanique des artères de conductances

L'ensemble de ces méthodes, en s'affranchissant au maximum des effets systémiques, a permis de mettre en évidence le rôle propre des facteurs endothéliaux dans la régulation basale et stimulée du comportement mécanique artériel des artères de conductance.

Ainsi, à l'état basal, le rôle majeur du NO dans la régulation des propriétés élastiques artérielles, notamment en s'opposant au tonus vasoconstricteur est maintenant démontré. Ainsi, plusieurs travaux chez l'animal et chez l'homme ont montré que l'inhibition de la sécrétion basale de NO par le *N*_G-monométhyl-L-arginine (L-NMMA) entraîne une augmentation de la VOP et du module élastique (à pression constante) (Kinlay et al., 2001; Schmitt et al., 2005; Wilkinson et

al., 2002a). Certaines études ont montré une amélioration paradoxale de la rigidité artérielle de l'artère radiale du sujet jeune sous L-NMMA, en rapport avec la sécrétion compensatrice d'autres EDHF en l'absence de NO (Joannides et al., 1995c, 1997). Ceci a permis la mise en évidence du rôle propre des EDHF dans la régulation basale de la mécanique artérielle, et plus particulièrement celui des EETs (Bellien et al., 2005, 2006b, 2008a). Ainsi, il a été montré chez le sujet sain jeune, qu'un inhibiteur des canaux K_{Ca} vasculaires (le chlorure de tétraéthylammonium, TEA) entraîne une augmentation de la rigidité artérielle. De même en l'absence de NO, l'administration de fluconazole, un inhibiteur spécifique de la formation des EETs, augmente la rigidité artérielle, révélant ainsi la sécrétion compensatoire des EETs pour préserver l'élasticité des artères de conductance (Bellien et al., 2005; Joannides et al., 1997).

A l'état stimulé, le NO est le principal facteur responsable de la dilatation débit-dépendante des artères de conductance musculaires périphériques. Une méta-analyse récente regroupant 20 études utilisant la dilatation endothélium-dépendante post ischémique chez le sujet sain, a évalué sa contribution à plus de 50 % de la dilatation (Green et al., 2014; Joannides et al., 1995b). Cet effet est également retrouvé pour des stimulations plus soutenues du flux (Bellien et al., 2006a). Par ailleurs, il a été montré que les EETs contribuent à cette réponse et que NO et EETs en association sont responsables de près de 70% de la réponse dilatatrice radiale (Bellien et al., 2006a; Fischer et al., 2007) alors que, dans ce territoire, la prostacycline n'y contribue pas contrairement à ce qui a été observé au niveau coronaire en cas de maladie athéromateuse (Mitchell et al., 2008; Osanai et al., 2000). En plus de ces effets sur la géométrie, des études évaluant spécifiquement les propriétés mécaniques artérielles ont confirmé le rôle des EETs et du NO dans l'augmentation de la distensibilité et la réduction du module élastique lors d'une augmentation brutale ou prolongée du flux artériel (Bellien et al., 2010; Joannides et al., 1997).

Concernant les effets de l'ET-1 au niveau des propriétés mécaniques des artères de conductance les résultats sont moins nombreux et montrent essentiellement son rôle dans la régulation du tonus artériolaire et du diamètre artériel basal au niveau coronaire (Heintz et al., 1993; Kyriakides et al., 2000). Chez l'animal l'ET-1, par l'intermédiaire du récepteur ET_A , augmente la rigidité des artères de conductance, comme l'atteste l'augmentation de la VOP au niveau de l'artère iliaque primitive chez le mouton (McEniery et al., 2003). De récents résultats obtenus au niveau de l'artère radiale chez l'homme sain montrent, en l'absence d'effet basal sur le diamètre et le débit, une limitation de l'effet vasoconstricteur ET_A de l'ET-1, lors de la stimulation par le flux, en relation avec sa clairance par le récepteur ET_B (Bellien et al., 2017).

II. Vieillessement artériel et HTA essentielle

1. Vieillessement artériel normal

Le vieillissement vasculaire est responsable de modifications majeures de la structure et de la fonction des vaisseaux. Ces changements sont responsables de conséquences délétères au niveau cardiaque, cérébral, rénal ainsi que dans la plupart des organes périphériques.

Le vieillissement artériel est caractérisé par une augmentation du diamètre et de la longueur des artères de conductance, de la rigidité artérielle, principalement des gros troncs, d'un épaissement de l'intima-media, d'une altération de la réactivité artérielle et d'une dysfonction endothéliale (Lakatta, 2003; Lakatta and Levy, 2003; Nichols et al., 2011; Paneni et al., 2017).

a. Mécanismes impliqués dans le vieillissement vasculaire

Ces modifications sont en partie expliquées par les modifications structurales de la MEC. Ainsi, le vieillissement artériel est caractérisé par une fragmentation de l'élastine et une augmentation de la proportion de collagène, secondaires à l'augmentation de l'activité protéasique au sein de la paroi artérielle (Jacob, 2003). Les phénomènes de glycation des protéines, particulièrement sur les protéines à demi-vie longue, entraînent la modification de l'agencement et des propriétés des protéines de la MEC en raison notamment de la réduction de la collagénolyse, de l'accumulation de collagène glyqué et de l'apparition de cross-links au niveau du collagène (Boulanger et al., 2007; Paul and Bailey, 1996). Par ailleurs, au cours du vieillissement, la paroi artérielle est le siège de phénomènes inflammatoires et de dépôts amyloïdes modifiant également ses propriétés (Fritze et al., 2012; Sell and Monnier, 2012). De plus, on observe la prolifération, la migration et l'altération des propriétés fonctionnelles des CML, telles que la synthèse de MEC, l'augmentation de la réactivité aux agents vasoconstricteurs, la transition vers un phénotype inflammatoire et pro-calcifiant, l'apoptose ou la sénescence aboutissant à un remodelage vasculaire (Lacolley et al., 2017).

Enfin, le vieillissement s'accompagne d'une dysfonction endothéliale, caractérisée par une transition vers un phénotype vasoconstricteur, pro-inflammatoire, pro-coagulant et prolifératif (Seals et al., 2011). Les mécanismes expliquant cette dysfonction endothéliale sont multiples : dérégulation de la balance entre substances vasodilatatrices et vasoconstrictrices, stress oxydant, activation du système immunitaire, augmentation des médiateurs pro inflammatoires, diminution de l'expression du récepteur aux œstrogènes- α , interaction entre les produits de

glycation avancée (AGE) et leur récepteurs (RAGE), activation du système rénine-angiotensine-aldostérone et du système nerveux autonome (Brandes et al., 2005; Lakatta, 2015; Nowak et al., 2018; Seals et al., 2011).

b. La dysfonction endothéliale au cours du vieillissement

La dysfonction de l'endothélium précède souvent l'existence d'anomalies structurales que ce soit au cours du vieillissement ou en pathologie.

Ainsi, le vieillissement s'accompagne d'une altération progressive de l'amplitude de la dilatation endothélium-dépendante en réponse à l'augmentation de débit et à l'acétylcholine au niveau coronaire (Zeiger et al., 1993), des artères de résistance (Lieberman et al., 1996; Taddei et al., 2001) et des artères de conductance périphériques (Celermajer et al., 1994; Wils et al., 2018) sans modification de la dilatation endothélium-indépendante en réponse au NO exogène. Ces anomalies apparaissent dès l'âge de 30 ans et s'aggravent progressivement (Wils et al., 2018). Elles sont plus précoces (une décade) chez l'homme que chez les femmes. Cependant, l'évolution est plus rapide chez la femme, lors de la ménopause, de telle sorte que l'amplitude de la dilatation endothélium-dépendante est comparable d'un sexe à l'autre après 65 ans (Celermajer et al., 1994).

Ces anomalies s'expliquent notamment par la diminution des principaux facteurs endothéliaux vasorelaxants, le NO et les EETs notamment. Deux mécanismes vont altérer la biodisponibilité du NO : la diminution de la production et l'augmentation de la dégradation du NO (Vanhoutte et al., 2017). Avec le vieillissement, un découplage de l'eNOS survient également participant à l'altération de la fonction eNOS, au moins en partie secondaire à la baisse de la biodisponibilité de BH₄. En conséquence, la production de NO diminue et la production d'anion superoxyde (O₂⁻) pro-oxydant augmente (Vanhoutte et al., 2017). De plus, le vieillissement s'accompagne d'une augmentation de la dégradation du NO liée à l'augmentation des ROS, secondaires à l'inflammation chronique (Seals et al., 2014).

Nous avons montré que la diminution du NO n'est pas forcément linéaire avec le vieillissement. Ainsi, on observe une augmentation du NO durant la première phase du vieillissement (entre 20 et 40 ans) pour ensuite décroître de manière parallèle à la réduction de la dilatation endothélium-dépendante (Wils et al., 2018). Une augmentation compensatoire de l'activité eNOS ou nNOS pour contrebalancer l'augmentation de la destruction de NO par les radicaux libres semble donc survenir entre 20 et 40 ans mais est insuffisante après 40 ans.

Une autre caractéristique de la dysfonction endothéliale liée à l'âge est la baisse de la biodisponibilité des EDHF et en particulier des EETs (Bellien and Joannides, 2013). A l'inverse du NO, peu d'études se sont intéressées au rôle des EETs dans la dysfonction endothéliale liée à l'âge. Concernant les artères de conductance, seule une étude a montré une diminution de la biodisponibilité des EETs avec le vieillissement (Wils et al., 2018). D'autres travaux expérimentaux confirment la disparation complète de la réponse vasodilatatrice reposant sur les EDHF, impliquant les EETs, au niveau rénal dans des modèles animaux de vieillissement (Long et al., 2005), ainsi qu'une diminution de l'activité du CYP450 epoxygénase aboutissant à une diminution de la production d'EETs (Lee et al., 2013). De plus, le vieillissement semble s'accompagner d'une augmentation de l'activité sEH, une des enzymes impliquées dans la dégradation des EETs, d'une diminution de l'expression des canaux K_{Ca} , la principale cible des EETs au niveau des CML, et d'un découplage du CYP450 lié au stress oxydatif. L'ensemble de ces modifications aboutissent ainsi à la réduction de biodisponibilité et à la baisse d'effet des EETs au niveau artériel (Dai et al., 2008; Krummen et al., 2006; Yang et al., 2014).

Enfin, le vieillissement est associé à une augmentation de synthèse de dérivés vasoconstricteurs. Ainsi, les taux d'ET-1 circulants et pariétaux augmentent (Donato et al., 2009; Van Guilder et al., 2007). De plus, le métabolisme des eicosanoïdes COX-dérivés est modifié, avec une augmentation des réponses vasoconstrictrices alors que les réponses relaxantes sont diminuées au niveau d'anneaux aortiques isolés (Heymes et al., 2000).

c. Conséquences du vieillissement sur la physiologie artérielle

Le vieillissement s'accompagne d'une augmentation de la rigidité artérielle caractérisée par une diminution de la compliance et de la distensibilité des artères de conductance altérant de fait leur capacité d'amortissement (Bussy et al., 2000; Engelen et al., 2015). La rigidification intrinsèque de la paroi artérielle est objectivée par la relation module-contrainte, qui se décale vers le haut avec l'âge. Ainsi pour un même niveau de contrainte, les patients âgés présentent un module élastique au niveau carotidien de plus en plus élevé parallèlement à leur classe d'âge (Bussy et al., 2000). De plus, la rigidification des artères de conductance a pour conséquence une accélération de la VOP (The Reference Values for Arterial Stiffness', 2010). Ceci résulte en une onde réfléchie qui va s'ajouter précocement avec l'onde incidente et ainsi augmenter la PAS et diminuer la PAD centrales (Greenwald, 2007; Laurent et al., 2005; O'Rourke and Hashimoto, 2007). Ainsi, la fonction d'amplification résultant du gradient de pression entre les artères centrales et périphériques va disparaître aboutissant à une altération du couplage cardio-

circulatoire. De même, l'augmentation de la rigidité va aboutir à une augmentation de l'onde incidente, expliquant également l'augmentation de la PP au niveau périphérique (Benetos et al., 1997; Mitchell et al., 2004). Les conséquences de cette augmentation de PP et de cette perte de l'amortissement vasculaire sont une augmentation de la transmission de la pulsativité de la pression au niveau microvasculaire, notamment rénal et cérébral (Figure 7) (Avolio et al., 2018; Benetos et al., 2012; Hanon et al., 2005; Toth et al., 2016).

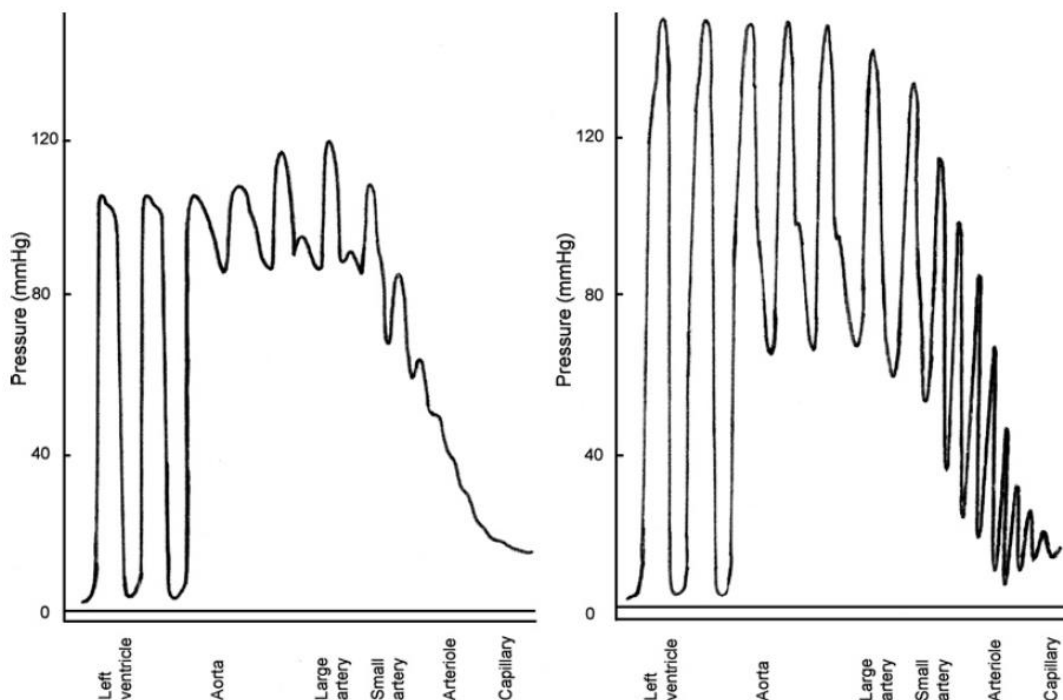


Figure 7. Effet du vieillissement sur les variations de la pression artérielle le long de l'arbre artériel.

D'après (O'Rourke and Hashimoto, 2007)

Ainsi, la rigidification des artères élastiques va conduire, chez le sujet âgé, à une élévation de la PAS et de la PP et une baisse de la PAD comparativement au sujet jeune (Franklin et al., 1997). Cette augmentation de la rigidité des artères de conductance est un facteur de risque indépendant de survenue d'événements cardio-vasculaires dans la population générale (Franklin et al., 1999; Laurent et al., 2006).

De plus, l'augmentation de la pression systolique et de l'impédance aortique aboutissent à une hypertrophie ventriculaire gauche responsable d'une augmentation de la consommation

myocardique en oxygène, elle-même aggravée par une moindre perfusion coronaire liée à la baisse de la pression diastolique (Figure 8) (O'Rourke and Hashimoto, 2007).

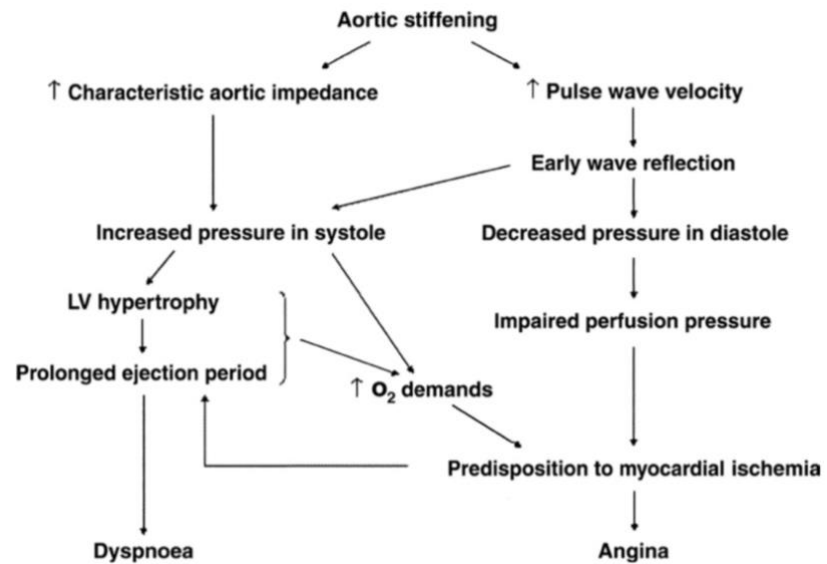


Figure 8. Effet du vieillissement sur le système cardiovasculaire.
D'après (O'Rourke and Hashimoto, 2007)

2. HTA essentielle, dysfonction endothéliale et mécanique des artères de conductance

L'HTA est associée à des modifications structurelles, biologiques, mécaniques et fonctionnelles des artères de conductance contribuant à une augmentation de la rigidité artérielle, du tonus musculaire lisse, à un remodelage vasculaire et à une dysfonction endothéliale. Comme pour le vieillissement, des mécanismes impliquant un déséquilibre dans la balance entre facteurs endothéliaux vasodilatateurs et vasoconstricteurs, une augmentation du stress oxydant, du calcium libre intracellulaire et des phénomènes pro-inflammatoires, pro-fibrosants ou pro-calcifiants, ont été identifiés et conduisent à évoquer un vieillissement vasculaire « accéléré » (Safar et al., 2014)

Même si nous n'aborderons ici que les déterminants et les conséquences des altérations des artères de conductance liées à l'HTA, il existe une inter-relation entre les anomalies observées au niveau des artères de résistance et celles des artères de conductance. En effet, le remodelage eutrophique de la paroi des petites artères est favorisé par la croissance des CML, la fibrose de la paroi artérielle, des phénomènes inflammatoires ainsi qu'une vasoconstriction chronique. Ces phénomènes vont s'auto-entretenir et aboutir à une augmentation des résistances périphériques, une altération de la vasodilatation périphérique et une raréfaction capillaire. L'ensemble a pour conséquence une augmentation de la PAD et de la PAM impactant les gros troncs artériels. Par ailleurs, la rigidification de ces derniers va également contribuer à l'aggravation de l'hypertrophie pariétale des petites artères en augmentant la PP et la PAS centrales aboutissant à des dommages au niveau des petites artères et à l'entretien du remodelage eutrophique (Figure 9) (Laurent and Boutouyrie, 2015).

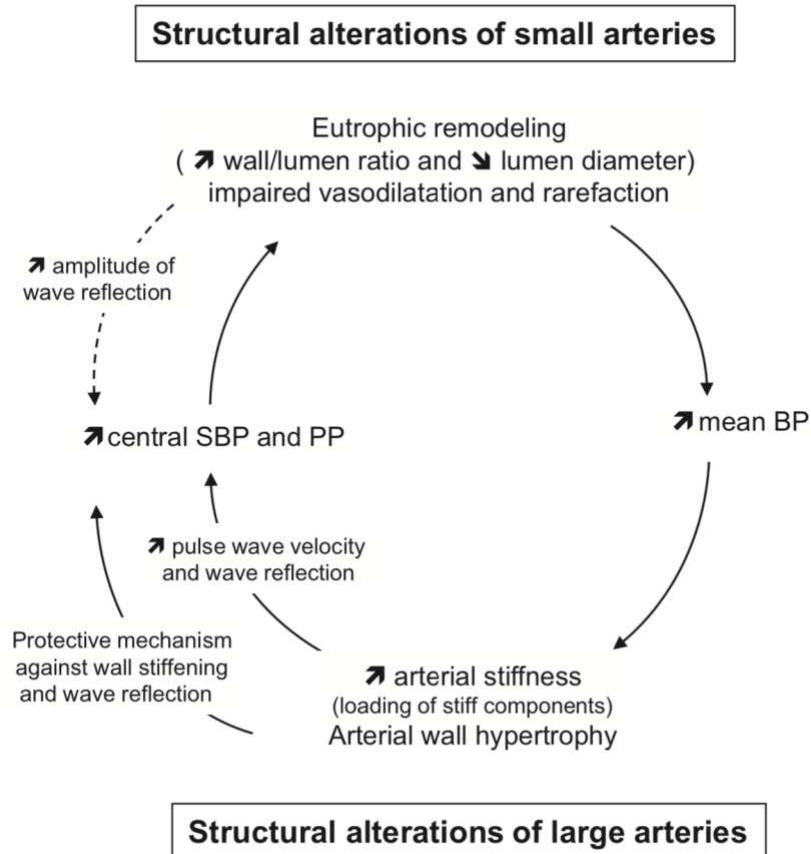


Figure 9. Représentation schématique du cercle vicieux d'aggravation des altérations des petites artères de résistance et des artères de conductance au cours de l'HTA essentielle. D'après (Laurent and Boutouyrie, 2015)

a. HTA essentielle et dysfonction endothéliale

L'HTA essentielle s'accompagne d'une dysfonction endothéliale au niveau des artères de résistance et de conductance périphériques (Ghiadoni et al., 2003; Joannides et al., 2008; Laurent et al., 1990; Linder et al., 1990).

Le degré d'altération de la réponse endothéliale est corrélé au niveau d'élévation de la pression artérielle (Iiyama et al., 1996). Même si l'effet direct passif de l'élévation de pression artérielle sur l'endothélium explique partiellement ces résultats, l'absence de normalisation des réponses endothéliales malgré l'amélioration des chiffres tensionnels et la présence d'anomalies endothéliales chez des sujets normotendus ayant des antécédents familiaux d'HTA suggèrent une atteinte directe de l'endothélium lors de l'HTA (Ghiadoni et al., 2003; Taddei et al., 1992). Comme lors du vieillissement, l'altération des réponses endothéliales au cours de l'HTA est en partie due à une diminution de l'activité et de la biodisponibilité du NO (Bellien et al., 2012a). Celle-ci est liée au découplage de l'eNOS, à la baisse de son expression et de son activité et

s'explique par une augmentation de l'activité arginase, une baisse des taux de BH₄, une accumulation d'ADMA et une augmentation du stress oxydant (Brandes, 2014; Vanhoutte et al., 2016).

Plusieurs éléments suggèrent le rôle des EETs dans la physiopathologie de l'HTA. Ainsi, des modèles animaux et humains ont montré qu'une augmentation de la 20-HETE et une baisse de la biodisponibilité des EETs endothéliaux, liées à une augmentation de l'activité sEH, contribuent à l'HTA, particulièrement dans les formes angiotensine-dépendantes (Gao et al., 2011; Imig, 2016). Dans l'HTA essentielle, bien que les taux plasmatiques d'EETs soient similaires à ceux des volontaires normotendus, une baisse de libération stimulée des EETs, contribue à la réduction de la dilatation endothélium-dépendante des artères de conductance observée dans l'HTA (Bellien et al., 2012a). Au cours de l'HTA réno-vasculaire, les taux d'EETs sont abaissés à l'état basal probablement du fait d'une baisse de leur production mais également d'une augmentation de leur dégradation par la sEH (Gao et al., 2011; Minuz et al., 2008).

Enfin, l'altération de la fonction endothéliale chez le sujet hypertendu pourrait également s'expliquer par une augmentation de l'ET-1, responsable de la formation de ROS, et d'effets pro-inflammatoire et pro-fibrosant favorisant le remodelage vasculaire (Sandoval et al., 2014). De plus, contrairement aux patients normotendus, l'augmentation du flux sanguin chez les patients hypertendus ne s'accompagne pas d'une baisse de la libération d'ET-1 (Bellien et al., 2012a).

b. HTA essentielle et mécanique des artères de conductance

L'HTA essentielle s'accompagne d'une augmentation du diamètre des artères de conductance proximales sous l'effet de l'augmentation de pression. L'ensemble est responsable d'une élévation de la contrainte pariétale conduisant à une augmentation de l'épaisseur intima-media (EIM) cependant insuffisante pour normaliser totalement la contrainte pariétale (Bussy et al., 2000). Ce remodelage s'explique davantage par les effets de l'élévation de la PP que de la PAM (Boutouyrie et al., 1999). Ainsi, sous l'effet des contraintes mécaniques cycliques au cours du temps, une rupture progressive des fibres d'élastine va survenir et contribuer à l'augmentation du diamètre. A l'inverse, cette augmentation de diamètre n'est pas observée au niveau des artères de conductance musculaire, probablement du fait de leur moindre élasticité physiologique et d'une plus grande régulation par le tonus pariétal (Bellien et al., 2012b; Benetos et al., 1993a; Laurent et al., 1993, 1994). En l'absence de dilatation luminale,

l'élévation de pression s'accompagne d'une augmentation de la contrainte pariétale responsable d'une hypertrophie pariétale qui la normalise (Laurent et al., 1994). Dans ces territoires, l'hypertrophie est d'avantage liée à la pression moyenne qu'à la PP (Boutouyrie et al., 1999).

Au plan structurel, cette augmentation de l'épaisseur pariétale est constituée de CML qui s'hypertrophient mais surtout qui adoptent un phénotype favorisant la production de MEC, l'ensemble respectant une organisation proche de la normale, en particulier au niveau des artères de conductance musculaires (Lacolley et al., 2012). L'étude précise de la MEC montre de plus une augmentation des zones d'attachements cellules-MEC, et une élévation des taux de fibronectine et des intégrines, telles que l' $\alpha 5\beta 1$, qui contribueraient à l'adaptation à l'augmentation de la contrainte mécanique (Bezie et al., 1998; Lacolley et al., 2018). Plus récemment, le rôle de la rigidité intrinsèque des CML a été rapporté pour expliquer l'augmentation de la rigidité au cours de l'HTA (Lacolley et al., 2018; Sehgel et al., 2015).

La rigidité artérielle au cours de l'HTA essentielle a pour conséquence une diminution de la compliance des gros troncs artériels. Lorsque l'artère est soumise à des pressions plus élevées, on assiste au recrutement des fibres collagènes, plus rigides, et donc à un décalage vers les hauts niveaux de pression de la relation pression-distensibilité (Laurent et al., 1994). Concernant la rigidité intrinsèque de la paroi artérielle des artères élastiques, même si les patients hypertendus présentent une relation module-contrainte décalé vers les niveaux de contrainte les plus élevés (en raison d'une PA élevée), seuls les patients les plus jeunes présentent un décalage significatif de cette relation vers le haut traduisant une augmentation de la rigidité intrinsèque pariétale (Bussy et al., 2000). Ceci suggère que la rigidité artérielle observée au niveau des gros troncs artériels au cours de l'HTA essentielle est due, chez les patients les plus âgés, aux conditions opérationnelles plutôt qu'à la rigidité intrinsèque de la paroi (Hanon et al., 1999). Ces résultats sont différents de ceux observés au cours de l'HTA associée à l'insuffisance rénale chronique (Blacher et al., 1999).

Les conséquences de l'augmentation de la rigidité pariétale au cours de l'HTA sont comparables à celles observées lors du vieillissement. En effet, l'HTA est associée à une augmentation de la VOP indépendamment de l'âge (The Reference Values for Arterial Stiffness', 2010). En conséquence, comme lors du vieillissement, l'onde réfléchie survient plus précocement, s'additionne à l'onde incidente et augmente ainsi les pressions centrales. Ce phénomène de réflexion est aggravé par l'augmentation des résistances périphériques liée à l'atteinte des artères de petits calibres.

Comme nous l'avons vu, le vieillissement normal et accéléré par l'HTA a des conséquences sur la mécanique artérielle et se traduit notamment par une diminution de l'élasticité. Cependant le comportement artériel n'est pas purement élastique mais viscoélastique. Les déterminants de cette composante visqueuse et les conséquences du vieillissement et de l'HTA sur la viscosité pariétale sont moins connus.

III. La viscosité pariétale

Comme nous l'avons vu précédemment, le comportement mécanique des artères de conductance, ses déterminants ainsi que ses modifications en pathologie ont été étudiés en considérant qu'elles suivaient un comportement élastique curvilinéaire. Cependant, les artères ont un comportement mécanique viscoélastique et non élastique pur. La composante visqueuse de ce comportement a été peu abordée en raison de difficultés méthodologiques et a souvent été considéré comme négligeable comparativement à la part élastique. Chez l'homme, les données sont rares en physiologie comme en pathologie. De même les déterminants, en particulier fonctionnels, de la viscosité de paroi et le bénéfice potentiel de la correction de ses anomalies en tant que cible thérapeutique sont peu connus.

1. Concept théorique

Au plan mécanique comme nous l'avons vu précédemment, la déformation des matériaux sous l'effet d'une force appliquée obéit à différents types de comportement :

- Le comportement élastique pur précédemment décrit
- Le comportement visqueux que nous allons détailler dans ce chapitre
- Le comportement plastique, que nous n'aborderons plus dans la suite de ce travail et qui consiste en la déformation permanente de la matière, liée à un réarrangement de ses composants à l'échelle atomique ou moléculaire. Ce comportement peut apparaître dès l'application de la force ou après une première phase de déformation élastique ou viscoélastique jusqu'à une limite d'élasticité qui correspond au début de la déformation plastique irréversible.

a. Le comportement viscoélastique : approche générale et modèles théoriques

L'évaluation du comportement viscoélastique ne peut se faire que de façon dynamique du fait de sa dimension temporelle. La composante visqueuse conduit à introduire dans la relation statique "force appliquée-déformation", un facteur temps (P_t), la restitution de l'énergie se faisant avec un délai entre l'arrêt de la sollicitation et le retour à l'état basal. Le modèle type de viscosité linéaire devient alors l'amortisseur parfait, répondant à la loi de comportement :

$$P_t = \eta \cdot (dX/dt)$$

où P_t est la force appliquée, X la déformation, η le coefficient de viscosité (constante de proportionnalité entre force et déformation en fonction du temps). Lorsque la viscosité du matériau est constante, quelque soient les contraintes qui lui sont appliquées on parle de fluide Newtonien. Comme pour le comportement élastique parfait, on transforme alors souvent cette relation en utilisant la contrainte et l'élongation temporelles :

$$\sigma = \eta \frac{d\varepsilon}{dt}$$

Les matériaux viscoélastiques mélangent donc les caractéristiques des solides élastiques et des fluides visqueux. Ainsi, les modèles les plus simples destinés à reproduire ce comportement comportent deux composantes, l'une élastique et l'autre visqueuse disposées en série ou en parallèle (Fung, 1993; Lazan, 1968) :

- Le modèle de Maxwell, plutôt adapté aux liquides qu'aux solides, consiste en un amortisseur monté en série avec un ressort parfaitement élastique (Hookéen)

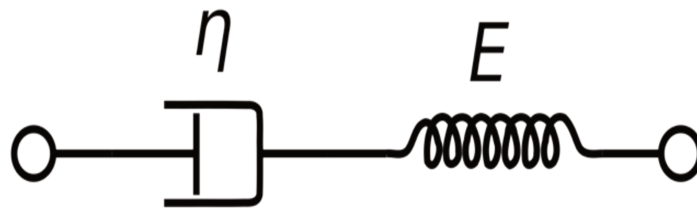


Figure 10. Modèle de Maxwell

$$\frac{d\varepsilon}{dt} = \frac{\sigma}{\eta} + \frac{1}{E} \frac{d\sigma}{dt}$$

Dans ce modèle, la contrainte appliquée est la même aux bornes du système et ε est la déformation totale (somme des déformations élastiques et visqueuses en série), E est le module élastique et η le coefficient de viscosité. Les termes visqueux et élastique sont dérivés des équations suivantes : $\sigma = \mu \frac{d\varepsilon}{dt}$ et $d\sigma = E d\varepsilon$, respectivement.

Ainsi, la déformation visqueuse est $\frac{d\varepsilon}{dt} = \frac{\sigma}{\eta}$ et le terme élastique dérivé en fonction du temps est

$$\frac{d\sigma}{dt} = E \frac{d\varepsilon}{dt} \text{ donc } \frac{d\varepsilon}{dt} = \frac{1}{E} \cdot \frac{d\sigma}{dt} .$$

- Le modèle de Voigt est le plus utilisé pour décrire les propriétés viscoélastiques des solides. Il consiste en un amortisseur monté cette fois en parallèle avec un ressort parfaitement élastique et répond à la loi suivante :

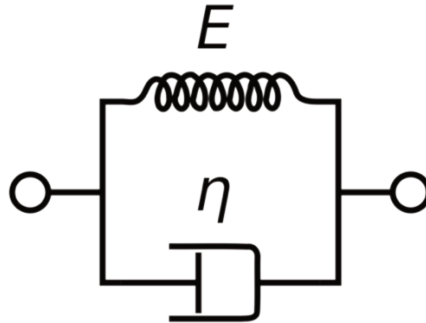
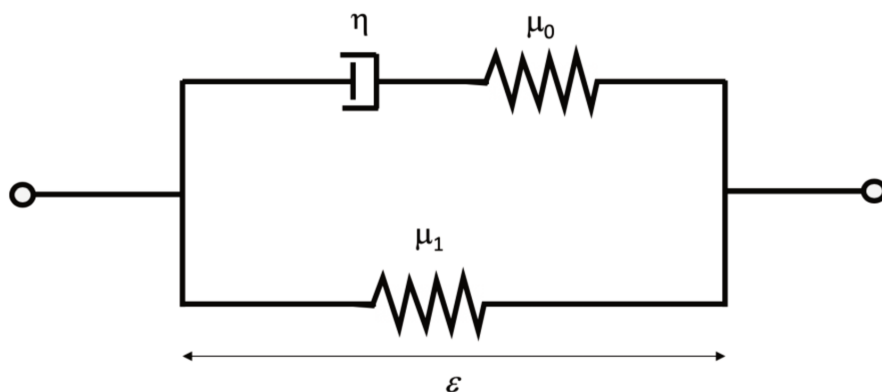


Figure 11. Modèle de Voigt

$$\sigma = E\varepsilon + \eta \frac{d\varepsilon}{dt}$$

Dans ce modèle, les deux composantes sont exprimées en fonction non plus de la déformation totale au cours du temps, qui est la même pour les deux éléments en parallèle, mais de la contrainte totale égale à la somme des contraintes exercées sur les éléments visqueux ($\eta \frac{d\varepsilon}{dt}$) et élastique ($E\varepsilon$).

- Le modèle de Kelvin : dans ce contexte des modifications ont été proposées afin d'améliorer la performance de ces modèles. Le modèle de Kelvin ou modèle à 3 paramètres (dont deux élastiques en parallèle et un visqueux en série) ou modèle solide linéaire standard correspond au schéma ci-dessous :



ε l'élongation totale, μ_1 et μ_0 les modules élastiques et η le module visqueux

Figure 12. Modèle à trois paramètres.

Au plan mathématique son expression est plus complexe mais reprend les modalités vues avec le modèle de Voigt appliquées aux trois éléments :

$$\sigma + \tau_\varepsilon \frac{d\sigma}{dt} = E_0 \left(\varepsilon + \tau_\sigma \frac{d\varepsilon}{dt} \right)$$

avec $\tau_\varepsilon = \eta/E_1$ et $\tau_\sigma = \frac{\eta}{E_0} \left(1 + \frac{E_0}{E_1} \right)$,

où E_1 le module élastique du ressort en série avec l'amortisseur, E_0 le module élastique du ressort monté en parallèle et η le coefficient de viscosité.

- D'autres modèles plus complexes ont été proposés tels que les modèles généralisés de Maxwell ou de Voigt, consistant en l'assemblage de n modèles, ou encore des modèles combinant ressorts et amortisseurs selon des montages à 3, 4 composantes, voire davantage (ex : modèle de Zenner, de Burger...).

Cependant, malgré leur complexité croissante, ces modèles restent généralement insuffisants pour décrire le comportement des matériaux biologiques et en particulier des artères (Fung, 1993). En effet, ils sont essentiellement adaptés aux matériaux viscoélastiques ayant un comportement linéaire, c'est à dire présentant une déformation proportionnelle lorsque la force appliquée est constante, quel que soit le niveau de cette force.

Comme nous l'avons vu précédemment, le comportement élastique des artères n'est pas linéaire, mais curvilinéaire avec notamment une diminution de la déformation pour des fortes contraintes. De même, le comportement visqueux de la paroi peut être impacté par les conditions de travail. La non-linéarité est liée à la composition de la paroi artérielle mais également au fait que pour des mouvements dynamiques de grandes amplitudes les matériaux polymériques (incluant les artères) vont subir des réarrangements qui vont modifier leurs propriétés. Ainsi, les travaux biomécaniques les plus récents s'orientent vers des modèles susceptibles de mieux décrire les composantes viscoélastiques non linéaires (Valdez-Jasso et al., 2011).

b. Évaluation du comportement visqueux des matériaux

Le comportement visqueux peut être évalué par l'application d'une force périodique sinusoïdale à un échantillon de matériau et par la mesure de la déformation résultante.

Dans ce contexte, 3 approches ont été proposées :

i. Première approche : mesure de l'angle de phase

Lors des essais dynamiques, une contrainte sinusoïdale est appliquée à une fréquence $f (=1/T)$ et l'on évalue l'existence ou non d'un décalage entre la sinusoïde de contrainte appliquée et la réponse sinusoïdale de déformation.

Ainsi, pour un système au comportement linéaire soumis à une contrainte sinusoïdale cyclique telle que :

$$\sigma(t) = \sigma_0 \sin(\omega t)$$

avec ω la vitesse angulaire telle que $\omega = 2\pi f = 2\pi/T$, σ la contrainte, t le temps, f la fréquence, et T la période d'oscillation.

La déformation ε provoquée répond alors de façon sinusoïdale selon la relation :

$$\varepsilon(t) = \varepsilon_0 \sin(\omega t + \delta)$$

où δ est le retard de phase (ou angle de phase ou angle de perte) qui caractérise le décalage entre les deux sinusoïdes. Il témoigne du phénomène de viscosité responsable de façon générale d'une dissipation d'énergie.

Pour les solides élastiques purs, il n'existe aucun décalage ($\delta = 0$), pour les liquides visqueux purs le décalage est maximal ($\delta = 90^\circ = \pi/2$), enfin pour les solides viscoélastiques on observe un décalage intermédiaire ($0^\circ < \delta < 90^\circ$) témoignant de la part du phénomène de viscosité (Figure 13).

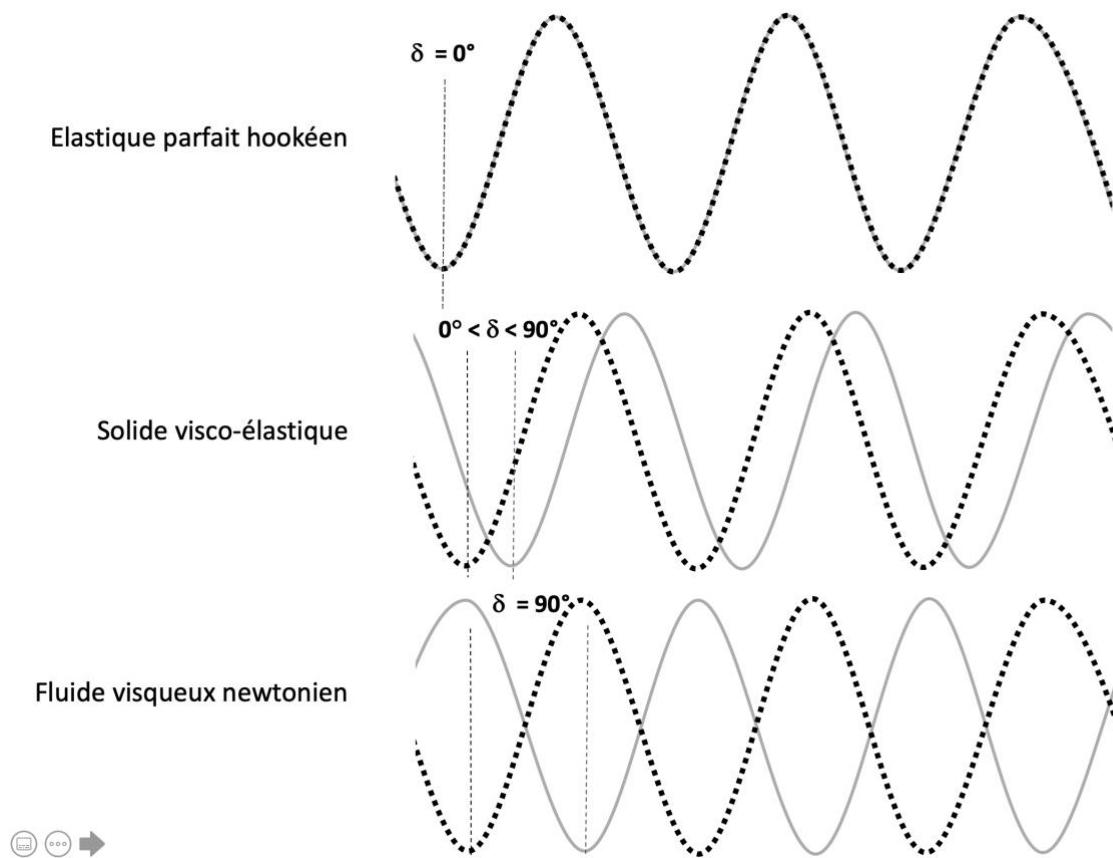


Figure 13. Décalage de l'angle de phase δ pour les élastiques parfait, les solides viscoélastiques et les fluides visqueux parfait.

La sinusoïde pointillée noire est la contrainte appliquée et la sinusoïde grise est la déformation.

ii. Deuxième approche : modélisation complexe

Une autre façon de caractériser le comportement viscoélastique est de déterminer le lien entre contrainte et déformation en utilisant un module dynamique complexe comme étant égal à la somme d'une grandeur réelle et d'une grandeur imaginaire traduisant respectivement le comportement élastique et visqueux de la paroi artérielle. Le module dynamique complexe E^* , en contrainte longitudinale sinusoïdale, est alors égal à la somme des termes :

$$E^* = E' + E'' = \sigma_0/\epsilon_0(\cos\delta + i \sin\delta)$$

Avec :

- $E' = |E^*|\cos\delta$, la partie réelle du module dynamique ou module de stockage avec ($|E^*| = \sigma_0/\epsilon_0$). Il correspond à la part d'énergie emmagasinée qui est restituée au cours d'un cycle.

- $E'' = |E^*| \sin\delta$, la partie imaginaire du module dynamique ou module de perte ou composante visqueuse du module complexe car il correspond à l'énergie dissipée sous forme de chaleur pendant le cycle avec ($|E^*| = \sigma_0/\epsilon_0$).

Dans de nombreuses études, cette démarche est appliquée au modèle linéaire de Voigt (Bergel, 1961b; Wanga et al., 2013) sous la forme :

$$E^* = E_{\text{dyn}} + i\eta\omega$$

Avec, E_{dyn} le module dynamique réel et $i\eta\omega$ la composante visqueuse imaginaire de E^* , ω la vitesse angulaire ($\omega = 2\pi f$) et η la viscosité absolue (exprimée en Poise ou Pa.s) dynamique ou coefficient de viscosité.

Ainsi, pour des matériaux dont la composante visqueuse est négligeable on a donc $E^* \approx E_{\text{dyn}}$. Les 2 approches précédentes sont souvent difficiles à appliquer aux matériaux dans le domaine de l'ingénierie et encore plus en physiologie dans la mesure où les contraintes sont exceptionnellement sinusoïdales et le comportement de ces matériaux rarement linéaire que ce soit dans le domaine élastique ou visqueux (Fung, 1993).

iii. Troisième approche : approche thermodynamique

Une troisième façon de caractériser le comportement de matériaux viscoélastiques lors d'essai cyclique en mécanique des solides est l'approche thermodynamique (Alexander, 1983; Lazan, 1968). Comme nous l'avons vu avec la stimulation sinusoïdale, il existe un décalage entre la contrainte appliquée et la déformation résultante. De ce fait, la relation contrainte-déformation va réaliser une boucle d'hystérèse. En effet, pour une même contrainte, la déformation est plus importante au cours de la décharge que de la charge. L'aire de la boucle correspond à l'énergie dissipée au cours du cycle de charge/décharge, l'aire sous la courbe de charge à l'énergie emmagasinée et l'aire sous la courbe de décharge à l'énergie restituée par le système (Figure 1). D'un point de vue thermodynamique, l'énergie dissipée au cours d'un cycle d'hystérèse traduit les propriétés d'amortissement du matériau. Ainsi, lors d'oscillations libres, l'amplitude des oscillations au cours du temps va diminuer. La dissipation de l'énergie s'effectue sous forme de chaleur.

Ainsi l'énergie dissipée D est exprimée par l'équation suivante :

$$D = \int \sigma d\varepsilon$$

Avec D l'énergie dissipée par unité de volume lors d'un stress uniforme durant un cycle complet. Elle est proportionnelle à l'aire de la boucle d'hystérèse de la relation contrainte-élongation.

De manière analogue on peut définir l'énergie U de déformation par unité de volume pour un matériau contraint de manière uniforme telle que :

$$U = \int_{\varepsilon=0}^{\varepsilon_{max}} \sigma_{mid} d\varepsilon$$

La formule ci-dessus n'est applicable que pour les matériaux ayant un faible amortissement, c'est pourquoi on utilise la contrainte moyenne (σ_{mid}) entre la phase de charge et de décharge à même niveau d'élongation ε . Pour les matériaux avec un amortissement important, il faut distinguer l'énergie emmagasinée par le système durant la phase de charge :

$$U = \int_{\varepsilon=0}^{\varepsilon_{max}} \sigma d\varepsilon$$

Et l'énergie restituée pendant la phase de décharge :

$$U = \int_{\varepsilon=\varepsilon_{max}}^0 \sigma d\varepsilon$$

En l'absence de modélisation mathématique, il est possible de mesurer par planimétrie ces différentes aires sous courbe qu'elles soient de charge ou de décharge et donc de mesurer directement U . Cette approche a été développée au niveau artériel in vitro et in vivo chez l'animal par Boutouyrie et coll. et sera utilisée dans ce travail chez l'homme (Boutouyrie et al., 1997).

A noter, la viscosité des matériaux peut être également exprimée par la capacité d'amortissement spécifique qui correspond au ratio de l'énergie dissipée (D) sur l'énergie d'élongation (U) (Lazan, 1968; Orban, 2011):

$$\psi = D/U$$

iv. Relation entre les 3 approches

Si l'on considère une déformation sinusoïdale, il existe un lien entre les 3 approches présentées ci-dessus correspondant au ratio des composantes visqueuse sur élastique exprimées dans chaque modèle. Ainsi, l'angle de phase comme sa tangente se rapprochent du ratio des modules visqueux et élastique du modèle complexe ($E''/E' = \sin/\cos = i\eta\omega/E_{dyn}$) et du ratio des énergies dissipée sur élastique du modèle thermodynamique (dans lequel D est divisée par 2π afin de rapporter l'énergie dissipée à une période complète d'application de la force de déformation sinusoïdale) :

$$\eta_p = \tan\delta = E''/E' = D/2\pi U$$

Ce ratio η_p est nommé coefficient de perte d'un matériau (ou facteur de perte ou facteur d'amortissement). Il est classiquement noté η en physique des matériaux mais nous avons choisi de noter η_p dans ce travail pour limiter la confusion avec le coefficient de viscosité η utilisé dans le modèle complexe.

Cette correspondance entre les modèles n'est vraie que pour les matériaux au comportement visqueux linéaire car le modèle complexe n'est pas applicable de façon satisfaisante lorsque le comportement visqueux est non linéaire. C'est pourquoi, on utilise plus volontiers comme modèle général celui fournit par l'approche thermodynamique (Bismuth et al., 2014; Carfagni et al., 1998; Ungar and Kerwin, 1962).

2. Caractérisation du comportement viscoélastique artériel

Le phénomène de viscoélasticité est particulièrement observé dans les matériaux polymériques. En effet, la structure de ces matériaux associant plusieurs composants ne présentant pas les mêmes caractéristiques mécaniques, et leur organisation induit un comportement viscoélastique (Goto and Kimoto, 1966). Les tissus biologiques présentent des caractéristiques de polymères. Ainsi, le phénomène de viscoélasticité a été étudié au niveau tendineux (Ker, 1981, 1981; Schwerdt et al., 1980), osseux (Linde et al., 1989; Yamashita et al., 2002), cutané et de la dure-mère (Bismuth et al., 2014; Dunn and Silver, 1983).

a. Approches in vitro

Les premières approches de la composante visqueuse de la paroi artérielle ont été réalisées in vitro. Ces approches se sont largement inspirées des techniques d'analyse mécanique dynamique et consistait en la mise en contrainte d'anneau ou de « bandes » de paroi artérielle selon une tension périodique de type sinusoïdale (Apter Julia T. and Marquez Elsa, 1968; Band et al., 1972; Cox, 1975; Goedhard and Knoop, 1973; Lawton, 1955; Patel et al., 1973).

D'autres dispositifs expérimentaux ont été développés utilisant des artères isolées canulées soumises à des variations sinusoïdales de volume de très faible amplitude à différents niveaux de pression moyenne (Bauer and Pasch, 1971; Bergel, 1961b; Dobrin and Rovick, 1969; Learoyd and Taylor, 1966; McDonald and Taylor, 1959). L'utilisation d'oscillations sinusoïdales de très faibles amplitudes ($\pm 5-10$ mmHg), bien inférieures aux variations de pression observées au niveau des artères de conductances lors d'un cycle cardiaque, permet de s'affranchir de la problématique de non-linéarité apparaissant pour des grandes amplitudes (le comportement étant considéré comme linéaire pour ces petites amplitudes d'oscillation) (Bauer et al., 1979). Cependant, cela ne rend pas compte du comportement visqueux véritable de l'artère en conditions physiologiques de variation de pression de grande amplitude. La boucle d'hystérèse présentée dans ces travaux est en fait reconstruite de manière incrémentale entre les bornes de pression et de diamètre physiologique à différents niveaux de PAM (Figure 14) (Busse et al., 1981).

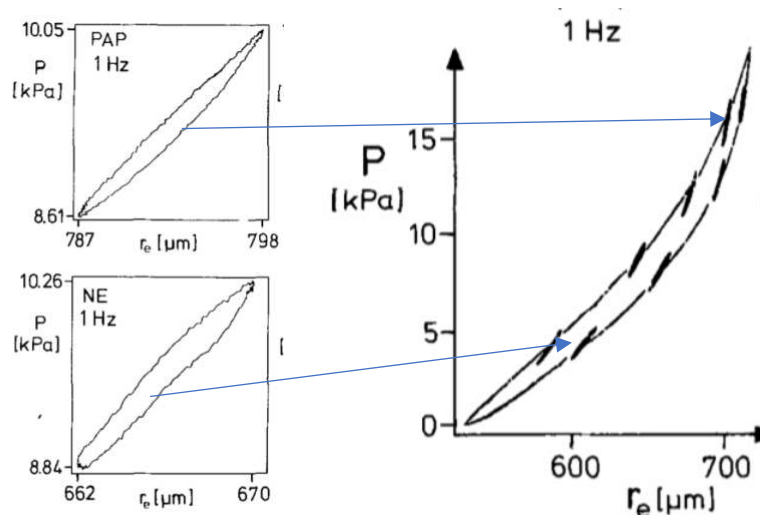


Figure 14. Boucle pression-diamètre au niveau d'une artère de queue de rat, pour de faibles oscillations sinusoïdales (A). Reconstruction de la boucle d'hystérèse à partir des boucles de faible amplitude d'oscillation (B).

D'après (Busse et al., 1981)

Dans ces études, le comportement visqueux a été évalué par la mesure de l'angle de phase δ (Gow et al., 1974), le calcul de $\tan\delta$ (Apter Julia T. et al., 1966) ou plus fréquemment par la détermination du module dynamique complexe E^* suivi de l'évaluation du module de perte $\eta\omega$ (Band et al., 1972; Bergel, 1961b; Busse et al., 1976).

Ces études retrouvent, pour les artères de conductance, un angle de phase entre la pression et le diamètre estimé entre 5 et 10°, la pression primant (Dobrin, 1978). Concernant le module visqueux $\eta\omega$, il ne représente que 5 à 10 % du module élastique dynamique (Band et al., 1972; Bergel, 1961b), témoin d'une faible dissipation d'énergie. Ces résultats sont retrouvés dans la majorité des segments artériels étudiés avec cependant un gradient ascendant à mesure que la quantité de muscle lisse augmente (Bergel, 1961b; Gow et al., 1974) (cf chapitre III.3.c).

Par ailleurs, Patel et coll. ont montré sur des aortes canulées de chiens anesthésiés et mis en pression par une onde sinusoïdale à des fréquences croissantes jusqu'à 5 Hz, une nette anisotropie artérielle avec des valeurs de modules dynamiques élastique et visqueux (E' et E'' calculés) différentes dans les 3 dimensions, telles que (Patel et al., 1973) : E' longitudinal $>$ E' circonférentiel $>$ E' radial et E'' longitudinal $>$ E'' radial $>$ E'' circonférentiel. Comme dans les précédents travaux, ils retrouvent une faible composante visqueuse attestée par un ratio E''/E' généralement inférieur à 0,12, concluant donc à une faible part d'énergie dissipée. Dans ce contexte expérimental, ce ratio apparaît moindre dans le plan circonférentiel comparé aux plans radial ou longitudinal, témoins d'une moindre dissipation d'énergie dans ce plan. Les auteurs suggèrent que ces différences de viscoélasticité selon le plan de section, permettent une transmission de l'énergie pulsatile emmagasinée quasi intégrale vers la périphérie (par la faible dissipation dans le plan circonférentiel) mais un amortissement des fluctuations d'énergies liées aux déformations dans les autres plans.

Cependant, il existe une certaine variabilité entre les études concernant les résultats observés du module E^* et de l'angle de phase δ . Ceci peut être lié au segment artériel utilisé et à sa présentation (bandes, anneaux ou artères isolées). De plus, E^* peut être obtenu par différents modes de calcul qui peuvent modifier les résultats. Ainsi, le module de Peterson E_P ou celui de Bergel (E_{inc}) ont été utilisés pour exprimer le module complexe et ainsi calculer le module dynamique et le module de perte. Certains auteurs estiment que E_{inc} est le plus fiable car il prend en compte l'épaisseur de la paroi (Gow et al., 1974).

Les limites de ces méthodes in vitro sont cependant nombreuses. Le travail sur anneaux ou bandes artérielles présente le désavantage de perdre la nature cylindrique de l'artère. Par

ailleurs, l'explantation conduit à la perte de la régulation nerveuse péri artérielle induisant des conditions de travail très différentes. De plus, l'application d'une stimulation sinusoïdale est non physiologique et ne rend pas complètement compte de la réalité du comportement artériel. Les approches in vivo se sont donc imposées pour résoudre ces problématiques.

b. Approche in vivo

L'utilisation de cathéter de pression invasif associé à une mesure du diamètre externe par l'application de capteur au niveau de la paroi artérielle in vivo ou par échographie a permis l'obtention des signaux de pression et de diamètre simultanés.

i. Approche fréquentielle

Les ondes périodiques de pression et de diamètre étant non sinusoïdales, il a été proposé de les décomposer en une somme de fonctions sinusoïdales élémentaires (harmoniques) par une transformée de Fourier. Cependant cette approche s'est révélée décevante (Gow and Taylor, 1968; Imura et al., 1990; Peterson Lysle H. et al., 1960). Ainsi, chez l'animal comme chez l'homme, la décomposition en 10 harmoniques des signaux de pression et de diamètre a permis d'obtenir, pour chaque harmonique, l'angle de phase δ et de calculer E^* . Il a alors été possible de déterminer le module élastique dynamique E_{dyn} et le module visqueux $\eta\omega$ à partir des relations $E_{dyn} = E^* \cos\delta$ et $\eta\omega = E^* \sin\delta$. Pour les deux premières harmoniques, les auteurs retrouvaient chez l'animal comme chez l'homme des résultats proches des études in vitro, à savoir, un angle de phase d'environ 7° au niveau de l'aorte abdominale et un module visqueux compris entre 9 et 12 % de E_{dyn} , croissant de l'aorte thoracique vers les artères périphériques (Gow and Taylor, 1968; Imura et al., 1990). Cependant, du fait de la non-linéarité de la relation pression-diamètre, cette méthode a donné des résultats aberrants de δ et de ratio dans les harmoniques les plus élevées (Bertram, 1980). Ceci ne permettait donc pas de rendre compte du phénomène visqueux pour l'ensemble des harmoniques des signaux mesurés conduisant à l'abandon de cette méthode.

Ces échecs de l'analyse fréquentielle et le caractère non physiologique de l'analyse sinusoïdale ont rendu préférable les approches temporelles (Tian et al., 2013). Ces approches ont été envisagées chez l'animal ex vivo et in vivo (Armentano et al., 1995b; Barra et al., 1997; Bauer et al., 1979; Boutouyrie et al., 1997, 1998) et chez l'homme (Armentano et al., 1995a; Shau et al., 1999; Stefanadis et al., 1995).

ii. Approche temporelle

Ces méthodes nécessitent l'obtention en simultané, sur deux sites différents les plus rapprochés possible ou successivement sur le même site, d'une courbe de pression et de diamètre. Ceci permet, d'emblée ou après resynchronisation, sur le pied de l'onde voire sur l'onde dicrote d'obtenir une relation pression-diamètre en temps réel. L'étape de synchronisation des 2 courbes est indispensable pour éviter les décalages de courbes liés à la mesure simultanée sur deux sites distincts ou à la mesure décalée dans le temps sur le même site (Hoeks et al., 2000). En effet, un décalage dans les sites de mesure aboutit à un décalage des courbes de pression et de diamètre résultant en une sur- ou sous-estimation du phénomène visqueux. Ceci a notamment été montré en utilisant des plateformes mettant en pression un tube viscoélastique tout en appliquant un décalage minime entre les sites de mesures de pression et de diamètre (Hoeks et al., 2000). Cependant, dans certains cas cette étape peut être évitée notamment si la mesure se fait en parallèle, par exemple sur les deux artères carotides strictement au même niveau (Bussy et al., 2000; Chau et al., 1999).

Globalement, 2 approches principales de mesure de la viscosité artérielle *in vivo* ont été proposées : l'une basée sur la séparation de la contrainte élastique et visqueuse par annulation de la boucle d'hystérèse par itérations successives, l'autre par la mesure de l'aire de la boucle d'hystérèse par planimétrie.

1. Annulation de la composante visqueuse par itération (ou méthode polynomiale ou modèle de Voigt modifié)

Cette méthode proposée par Bauer et coll. a été initialement réalisée *in vivo in situ* chez le chien anesthésié (Bauer et al., 1979). Elle est, comme pour le modèle de Voigt, basée sur la séparation du comportement artériel en une contrainte élastique et une visqueuse telle que :

$$\sigma = \sigma_{el} + \sigma_{vis} = f_{el}(r) + f_{vis}\left(\frac{dr}{dt}\right)$$

où r le rayon et σ la contrainte telle que $\sigma = P \cdot r_i/h$ avec r_i le rayon interne, h l'épaisseur de la paroi.

A la différence des séparations précédentes, elle ne présuppose pas la linéarité du comportement élastique ou visqueux car f_{el} et f_{vis} sont des fonctions générales. L'expression de σ_{vis} peut alors être écrite telle que :

$$\sigma_{vis} = F \cdot \frac{dr}{dt}$$

en supposant que F est une constante.

Ainsi, le comportement élastique peut être exprimé tel que :

$$\sigma_{el} = \sigma - F \cdot \frac{dr}{dt}$$

La relation entre σ_{el} et le rayon r étant par définition une courbe ne présentant aucune hystérèse car élastique, le coefficient F est alors obtenu par itération jusqu'à la disparition de la boucle de la relation σ/r . Cependant, l'absence de valeur de F au plan expérimental permettant la suppression complète de la boucle a conduit à proposer une expression de F en utilisant deux facteurs F_1 et F_2 tels que :

$$F = \left(F_1 + F_2 \left| \frac{dr}{dt} \right| \right) \cdot dr/dt$$

Soit :

$$\sigma_{el} = \sigma - \left(F_1 + F_2 \left| \frac{dr}{dt} \right| \right) \cdot dr/dt$$

où les valeurs à déterminer sont F_1 , un terme constant, et F_2 , un terme proportionnel à dr/dt (vitesse de déformation). L'utilisation de cette équation polynomiale de second degré apparaît alors suffisante pour obtenir une annulation quasi complète de la boucle d'hystérèse et l'ajout de degrés supplémentaires n'améliore pas la suppression de la boucle. La contrainte visqueuse est ensuite calculée à différents niveaux de dr/dt observés lors du cycle cardiaque. Il apparaît alors que la relation contrainte visqueuse-vitesse de déformation est de forme sigmoïdale traduisant la non-linéarité du comportement visqueux au cours du temps. Ainsi, la contrainte visqueuse augmente avec la vitesse d'étirement (dr/dt) mais de manière non linéaire tendant à une valeur en plateau aux hautes vitesses de déformations (Figure 12) (Bauer et al., 1979).

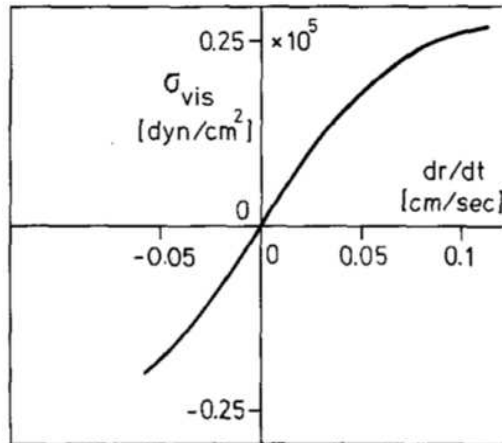


Figure 15. Relation contrainte visqueuse-dr/dt
D'après (Bauer et al., 1979)

Les auteurs proposent alors de calculer par analogie au module de Bergel un module visqueux qu'ils nomment coefficient de viscosité η dépendant de la vitesse de déformation. Ce module de viscosité correspond au rapport de la contrainte visqueuse circonférentielle (σ_{vis}) à la déformation relative en fonction du temps ($r \cdot dt/dr$) et intègre la dimension longitudinale par l'expression $(1-v^2)$ de l'équation de Bergel (Bergel, 1961a):

$$\eta = \frac{\sigma_{vis} \cdot r}{dr/dt} (1 - v^2)$$

où r est le rayon moyen, et σ_{vis} et dr/dt sont issus de la relation précédente.

Ce coefficient de viscosité ainsi exprimé est égal à la pente de la tangente à la relation contrainte visqueuse-vitesse de déformation à chaque niveau de dr/dt . Ainsi, le coefficient η n'est pas constant, il est élevé pour de faibles vitesses d'étirement et diminue pour atteindre une valeur quasi nulle pour les vitesses d'étirement maximales. Cette vitesse d'étirement est modulée par 2 facteurs :

- La FC, dont l'effet est assez faible dans l'intervalle des fréquences physiologiques.
- Le moment du cycle qui influe fortement sur la vitesse d'étirement pouvant être positive, nulle ou négative. Ainsi, au cours du cycle cardiaque le coefficient η calculé par Bauer n'est pas constant, étant minimal lors de la phase systolique où la vitesse d'étirement est maximale, correspondant à la montée rapide de la pression en systole. A l'inverse lors de la phase diastolique la vitesse de rétraction est plus lente car la diminution de la pression est progressive, le module visqueux augmente et la viscosité pariétale va être plus marquée. Ceci explique probablement pourquoi on voit apparaître le phénomène visqueux et l'hystérèse lors de cette phase.

L'équipe d'Armentano et coll. utilise une simplification de la méthode initiale de Bauer (Armentano et al., 1995b; Barra et al., 1997). Par itération successive, ils déterminent la valeur d'un coefficient de viscosité pariétal η tel que :

$$P_{\text{élast}} = P_{\text{mesurée}} + \eta \cdot dD/dt$$

Avec D le diamètre et $P_{\text{élast}}$ la pression pour laquelle la boucle d'hystérèse disparaît en conservant un sens de rotation horaire se rapprochant ainsi au plus près d'une relation pression-diamètre théorique parfaitement élastique. Ainsi, il s'agit d'un modèle polynomial à un degré correspondant au modèle de Voigt, contrairement au modèle de Voigt modifié de Bauer à 2 degrés. En conséquence, le coefficient de viscosité η évalué par Armentano et coll, ne rend pas compte de la non-linéarité du comportement visqueux contrairement à celui (variable) évalué par Bauer.

En combinant la méthode du module complexe et l'approche polynomiale permettant le calcul du coefficient η par annulation de l'hystérèse, Armentano et coll ont proposé une méthode de calcul du travail visqueux tel qu'il est exprimé au plan thermodynamique (Armentano et al., 2006, 2006). Dans cette approche le travail visqueux est exprimé par l'énergie dissipée W_D telle que :

$$W_D = \omega \eta \cdot A / \pi$$

où ω est la vitesse angulaire ($2\pi \cdot FC$), $\omega \eta$ le module de perte du module complexe et A l'expansion systolo-diastolique de la section artérielle au cours du cycle. De plus, un ratio d'amortissement est calculé tel que :

$$\xi = W_D / W_{St}$$

Avec W_{St} l'énergie restituée sans dissipation par la paroi telle que :

$$W_{St} = -2A/\pi C$$

où C est la compliance artérielle isobarique.

L'expression du travail visqueux développée dans ce travail établi un lien direct avec le coefficient de viscosité, qui bien que constant dans ce modèle, caractérise, lui, les propriétés visqueuses intrinsèques du matériau. Elle montre également le lien entre le travail visqueux et

les conditions de travail de l'artère, en particulier avec la FC et l'expansion systolo-diastolique de la lumière vasculaire.

2. Approche thermodynamique basée sur la planimétrie de la boucle d'hystérèse

En 1997, inspirée par des travaux précédents, Boutouyrie et coll. propose d'utiliser une approche thermodynamique pure, que nous utiliserons également dans la suite de ce travail, pour l'étude de la viscosité artérielle (Bertram, 1980; Bodley, 1976; Boutouyrie et al., 1997). Dans cette approche, la courbe de diamètre a été obtenue au moyen de l'échotracking vasculaire et la courbe de pression soit par mesure invasive de l'aorte abdominale de rats pour les expérimentations in vivo, soit en générant une onde de pression d'allure physiologique par un dispositif de pompe/piston (in vitro). Ainsi, la boucle d'hystérèse, témoin du phénomène de viscosité a pu être évaluée dans les mêmes conditions de travail in vivo et in vitro. La mesure de l'aire de la boucle par planimétrie, étant le produit d'une pression et d'une surface, correspond à la valeur de viscosité absolue exprimée en $J.m^{-1}$. Le système d'échotracking fournissant une mesure de diamètre, et les surfaces étant calculées à partir de ces données en supposant un cylindre parfait, certains auteurs ont utilisé la relation pression-diamètre, la viscosité était alors exprimée en $J.m^{-2}$ (Toutouzas et al., 2000). Ainsi, l'aire mesurée renvoie directement à l'énergie dissipée au cours d'un cycle cardiaque pour une unité de longueur. La valeur de l'aire sous la courbe ascendante de la relation (charge) correspond à l'énergie élastique emmagasinée par la paroi. Cette méthode permet de calculer un ratio entre énergie dissipée et emmagasinée et tient donc compte en partie des conditions de travail. Ainsi, ce ratio se rapproche très fortement de la capacité d'amortissement spécifique d'un solide entier en ingénierie mécanique $\psi = D/U$ (Lazan, 1968; Orban, 2011).

D'un point de vue pratique, certains auteurs utilisent le diamètre externe (Stefanadis et al., 1995) et d'autres le diamètre interne pour réaliser ces courbes pression-diamètre (ou surface) (Boutouyrie et al., 1997; Stefanadis et al., 1997). Une étude a montré que la mesure du diamètre interne avec un cathéter intra-luminal en Y était superposable en termes de variation à la mesure du diamètre externe en plaçant chez l'animal 2 cristaux pariétaux au niveau adventitial suggérant que les diamètres interne et externe pouvaient être utilisés indifféremment dans l'évaluation du phénomène visqueux (Stefanadis et al., 1995). Ces résultats vont cependant à l'encontre de ceux comparant différents systèmes d'échotracking vasculaire ne mesurant pas

les diamètres au même niveau de la paroi et concluant à la non-comparabilité des méthodes entre elles pour l'analyse du comportement mécanique (Segers et al., 2004). En effet, les variations du diamètre interne sont supposées être plus amples que celle du diamètre externe du fait de l'amincissement pariétal. L'effet direct du cathéter en Y sur la paroi explique probablement ces résultats discordants.

3. Autres approches

D'autres méthodes ont été utilisées pour évaluer le phénomène visqueux mais dans une moindre mesure. A partir de la mesure simultanée de la pression et du diamètre carotidien (bilatérale) Lénard et coll. ont tenté d'évaluer la viscosité en calculant la distensibilité quasi-statique (D_{stat}) et la distensibilité dynamique (D_{dyn}) (Lénard et al., 2000). En théorie, D_{stat} ne dépend que de la composante élastique alors que D_{dyn} dépend aussi de la viscosité. Ainsi, D_{stat}/D_{dyn} pourrait être un marqueur de viscosité. Cependant, les conditions d'obtention de D_{stat} à partir de différents niveaux de PAM (au repos et après cold pressure test ou contraction musculaire) induisent des modifications de contrainte et de géométrie qui ne sont pas prises en compte.

Une autre méthode proposée est d'évaluer le phénomène visqueux par la comparaison des pentes systolique et diastolique de la boucle d'hystérèse (Giannattasio et al., 2008). A l'opposé de l'évaluation incrémentale du comportement artériel, certains auteurs ont proposé cette méthode basée sur le principe de pseudo-élasticité (Bauer and Pasch, 1971; Fung, 1993). Compte tenu du caractère cyclique de la relation contrainte-déformation, ce principe propose de considérer le matériau étudié comme un matériau élastique lors de la phase de charge et un autre matériau élastique lors de la décharge. Ainsi, les pentes (marqueur de rigidité, car équivalent au module) de chaque phase peuvent être comparées et seraient un marqueur de viscosité. Bien que les auteurs confirment une rigidification systolique et diastolique avec l'âge et l'HTA, il n'existe pas de résultats spécifiques concernant les différences de pentes. De plus, cette méthodologie n'a pas été comparée aux autres techniques de planimétrie ou d'annulation d'hystérèse rendant difficile son utilisation actuelle (Giannattasio et al., 2008).

3. Déterminants de la viscosité

Les propriétés d'amortissement des matériaux viscoélastiques dépendent de nombreux facteurs. Parmi eux les principaux sont : le type de matériau, l'amplitude de la contrainte, les forces internes, le nombre de cycle d'étude, la géométrie, la température (Lazan, 1968; Orban, 2011). Concernant les artères plusieurs travaux ont évalué, au moyen des différentes approches méthodologiques exposées dans le chapitre précédent, les déterminants de la viscosité. Même si ces derniers restent discutés, des résultats expérimentaux et cliniques suggèrent une régulation passive liée à la viscosité propre des composants de la paroi vasculaire telles que les CML et une régulation active par le tonus musculaire et l'endothélium (Armentano et al., 1995b; Bergel, 1961b; Boutouyrie et al., 1997; Busse et al., 1981). De plus, les conditions de travail mécanique de l'artère, semblent impliquées, rendant indispensable la prise en compte de la géométrie, de la PP et de la FC lors de l'étude du phénomène visqueux (Boutouyrie et al., 1997; Mangoni et al., 1996; Stefanadis et al., 2000; Tan et al., 2012).

a. Les conditions de travail artérielles

i. La contrainte pariétale

Le comportement mécanique des matériaux viscoélastiques dépend fortement des contraintes appliquées (Orban, 2011). Ainsi pour des matériaux uniformes, tels que les métaux, la dissipation d'énergie est régie par la relation :

$$D = J\sigma_n$$

avec 2 constantes : J la constante d'amortissement et n l'exposant d'amortissement. Cette relation traduit le fait que la dissipation d'énergie varie avec l'amplitude de la contrainte. De plus, lorsque ces matériaux sont organisés en structure (cylindriques par exemple), la dissipation dépend également de la géométrie car la distribution de la contrainte ne sera pas forcément homogène. Enfin, l'énergie emmagasinée U dépend du carré de la contrainte (Lazan, 1968; Orban, 2011). En conséquence, le ratio entre D et U dépend de la contrainte quand n est supérieur à 2 ce qui est le cas pour la plupart des polymères (Orban, 2011). Comme nous le voyons, du fait de leur composition et de leur organisation inhomogène, le comportement des artères en réponse à la contrainte ne peut pas être exprimé par une relation aussi simple. Cependant, cette relation souligne, d'un point de vue théorique, la relation qui existe entre

contrainte et amortissement et montre que le ratio entre énergie dissipée et emmagasinée n'annule pas totalement pour les polymères cette dépendance à la contrainte.

D'un point de vue expérimental, plusieurs travaux *in vitro* ont étudié la relation entre la contrainte et le comportement visqueux. Ainsi, une relation linéaire entre η , $\eta\omega$ ou l'angle de phase et la contrainte semble exister (Bauer and Pasch, 1971; Busse et al., 1981). A l'inverse, certains auteurs constatent une diminution de la surface de la boucle d'hystérèse dans des expériences à PAM croissante mais PP constante suggérant une diminution de l'énergie dissipée lors de l'augmentation de la contrainte (Gow et al., 1974). Ces résultats sont cependant à tempérer car l'augmentation concomitante de la rigidité artérielle aboutit à une baisse de la surface de l'aire sous la courbe de charge donc de l'énergie emmagasinée et donc un ratio stable lors de l'augmentation de la PAM (Boutouyrie et al., 1998). Ainsi, certains auteurs, suggèrent que le ratio entre énergie dissipée et emmagasinée dépend essentiellement de la PP et non du niveau de PAM (Boutouyrie et al., 1998). Chez l'homme, des résultats indirects suggèrent que l'augmentation de la contrainte, par exemple chez certains hypertendus, s'accompagne d'une augmentation de η et de l'énergie dissipée (Armentano et al., 2006). Cependant, ces patients présentent également une augmentation de la PP et une hypertrophie pariétale qui constituent des facteurs confondants.

ii. La fréquence cardiaque

Un autre déterminant lié aux conditions de travail est la FC. Plusieurs travaux *in vitro*, sur des modèles animaux notamment, ont étudié l'effet d'une augmentation de la fréquence sinusoïdale entre 0 et 15 Hz (correspondant au range des fréquences des n harmoniques de l'onde de pression). Alors que plusieurs auteurs constatent une forte augmentation de E_{dyn} (jusqu'à 59%) entre 0 et 2 Hz (Band et al., 1972; Bauer and Pasch, 1971; Bergel, 1961b) puis une stabilisation pour des fréquences supérieures (Bergel, 1961b; Gow et al., 1974), on observe une augmentation très modeste, voir dans certains travaux une diminution, du module visqueux $\eta\omega$ et de δ (Bergel, 1961b; Gow et al., 1974). Ces relations avec la fréquence sont retrouvées pour la majorité des segments artériels étudiés (aorte jusqu'aux fémorales, carotides, coronaires) (Gow et al., 1974).

In vivo, le rôle de la composante visqueuse dans l'augmentation de la rigidité artérielle lors de l'augmentation de la FC par le stimulation cardiaque (pacing) a été suggéré (Mangoni et al., 1996; Mircoli et al., 1999; Tan et al., 2012). A l'inverse, certains auteurs ont montré une

augmentation de la distensibilité avec le pacing chez l'homme, associée à une diminution de la surface de la boucle d'hystérèse (Stefanadis et al., 1998). D'autres auteurs retrouvent une stabilité du module élastique et du module visqueux $\eta\omega$ (Salvucci et al., 2007). L'explication de ces résultats contradictoires pourrait venir d'une baisse de la PP ou du diamètre avec le pacing, aboutissant à une diminution de la contrainte pariétale et donc à des conditions de travail différentes selon les études (Giannattasio et al., 2003; Stefanadis et al., 1998). Une relation « en cloche » de $\tan\delta$ avec le logarithme de la fréquence pourrait également expliquer les différences observées entre les études selon le modèle et le range de fréquence étudiés (Fung, 1993). Dans tous les cas, une variation modeste de $\eta\omega$ en présence d'une augmentation de fréquence, donc de ω , traduit une baisse marquée de η (Armentano et al., 2001; Busse et al., 1981). Au plan expérimental, cette baisse apparaît plus importante pour les niveaux de contrainte les plus élevés (Busse et al., 1981). L'explication de ce phénomène n'est pas certaine mais la baisse de η pourrait être la conséquence de la relaxation des CML par la stimulation endothéliale liée à l'augmentation du flux lors de l'accélération de la FC (Armentano et al., 2001; Goto and Kimoto, 1966; Salvucci et al., 2007).

A notre connaissance, seule une étude chez le rat normotendu et spontanément hypertendu (Albaladejo et al., 2004), a évalué l'effet de la réduction pharmacologique de la FC sur la viscosité pariétale évaluée par une approche thermodynamique. Dans ce travail, il a été montré une augmentation de la viscosité absolue et relative secondaire à l'administration aiguë d'ivabradine, sans augmentation du module élastique.

b. La matrice extracellulaire

Plusieurs travaux ont montré que les propriétés passives de la MEC étaient responsables d'une partie du comportement visqueux. Ainsi, des expérimentations de digestion sélective sur artères isolées ont été réalisées montrant une augmentation nette du module élastique et de l'hystérèse lors de la digestion de l'élastine et des CML par de la trypsine (Goto and Kimoto, 1966). A l'inverse, une digestion du collagène et de la CML par de l'acide formique entraîne une disparition de la boucle d'hystérèse et une baisse de la rigidité. De même, au niveau de l'artère pulmonaire, il existe une persistance de l'hystérèse malgré, l'inactivation des CML par un milieu pauvre en ions calcium et magnésium suggérant un rôle propre des composants de la MEC (Wang and Chesler, 2012).

De plus, l'augmentation de la quantité de collagène et de protéoglycanes est responsable de l'augmentation de la viscosité relative observée dans un modèle animal d'hypertension

artérielle pulmonaire (HTAP) induite par l'hypoxie, en l'absence de modification du contenu en CML (Wang et al., 2013). Cette augmentation est secondaire à une diminution de l'énergie emmagasinée alors que l'énergie dissipée reste constante. De manière intéressante, l'administration d'un traitement limitant la survenue de cross-links entre les protéines de la MEC, prévient cette augmentation de viscosité. Ces résultats suggèrent un rôle des cross-links dans la rigidification du système et l'augmentation de la viscosité (Wang and Chesler, 2012). Chez des souris transgéniques synthétisant du collagène de type I résistant aux collagénases, l'absence de turnover du collagène et la désorganisation de la structure et des interactions entre les fibres collagènes mais aussi avec les autres structures de la MEC aboutissent à une altération des capacités d'amortissement (Wang et al., 2013). Ces résultats insistent ainsi sur le rôle de l'architecture et des frictions entre les composants de la paroi dans le phénomène viscoélastique et pas seulement sur la viscosité propre du collagène.

L'élastine présente une hystérèse quasi nulle ce qui confirme son caractère proche d'un élastique parfait (Wagenseil and Mecham, 2009). Cependant des modifications pathologiques de l'élastine, notamment l'augmentation des cross-links par le phénomène de glycation, peuvent être responsable de l'apparition d'une hystérèse témoignant du rôle de l'architecture de la MEC dans le phénomène de viscosité (Wang et al., 2015; Zou and Zhang, 2012). De même, un déficit en fibuline-5, une glycoprotéine assurant une liaison entre les fibres élastiques et les intégrines de la surface des cellules, est responsable d'un effondrement de l'énergie élastique emmagasinée et d'une augmentation de l'énergie relative dissipée (Ferruzzi et al., 2015). Enfin, la desmine, une protéine filamentaire qui contribue à l'architecture des fibres musculaires lisses, contribue à la VPA. Ainsi les artères carotides des souris mutées desmine -/-, présentent une distensibilité moindre et des viscosités absolue et relative plus élevées que des souris desmine +/+, alors que les quantités de collagène, d'élastine et de CML sont similaires (Lacolley et al., 2001).

L'ensemble de ces éléments confirme que la viscosité propre des constituants de la paroi artérielle mais également la composition de la paroi artérielle ou l'organisation et l'architecture liant cellules et MEC participent au comportement viscoélastique artériel.

c. La cellule musculaire lisse

La CML a longtemps été considérée comme le principal élément de la paroi responsable du phénomène visqueux. Plusieurs études *in vitro* ont montré que le module élastique dynamique E_{dyn} est plus élevé que le module statique E_{stat} , ce qui traduit la part visqueuse du comportement

mécanique. A mesure que les artères de conductance sont plus riches en CML le ratio $E_{\text{dyn}}/E_{\text{stat}}$ augmente passant de 1,1 pour l'aorte thoracique à 1,2 pour l'aorte abdominale, 1,4 pour la fémorale, 1,6 pour la carotide et jusqu'à 2 pour l'artère circonflexe (Bergel, 1961b; Gow et al., 1974). Plusieurs études *in vitro* ont confirmé que η_0 est plus élevé dans les artères les plus riches en CML (Bergel, 1961b; Dobrin, 1978). De même, *in vivo*, le coefficient η est plus élevé dans les artères de conductance les plus distales (Bia et al., 2005). De plus, la viscosité absolue diminue lors d'expérience de décellularisation d'artères carotides (Williams et al., 2009b). D'autres travaux ont montré l'association entre l'augmentation de l'EIM et de la viscosité carotidienne et suggèrent ainsi que le muscle lisse joue un rôle dans la viscosité (Armentano et al., 1998). Par ailleurs, les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (IEC) pourraient réduire la viscosité pariétale par un effet anti-remodelage qui réduit l'hypertrophie des CML (Armentano et al., 2006). Cependant, les composants cellulaires responsables du comportement visqueux de la CML sont mal connus mais pourraient être le cytoplasme, la membrane cellulaire, les éléments du cytosquelette mais également les interactions cellule-MEC comme nous l'avons vu précédemment (Janmey, 1991).

d. Le tonus musculaire

Le rôle du tonus musculaire lisse a également été avancé pour expliquer le phénomène visqueux. Plusieurs études *in vitro* ont donné des résultats contradictoires rendant difficile une conclusion définitive. Ainsi, une augmentation de l'angle de phase, du module visqueux ou de l'hystérèse est décrite lors de l'administration de vasoconstricteurs tels que la norépinéphrine, la phényléphrine, le cyanure de potassium ou l'histamine ou lors d'une stimulation électrique (Alexander, 1983; Dobrin and Rovick, 1969; Goto and Kimoto, 1966; Patel et al., 1973; Wurzel et al., 1970). Par contre à des doses très élevées de norépinephrine, l'aire visqueuse s'effondre, mais dans un contexte particulier de diminution massive de la distensibilité (Holzapfel and Ogden, 2014). A l'inverse sous papavérine une diminution de l'hystérèse est constatée (Bauer and Pasch, 1971).

Ces résultats ont été également constatés *in vivo*, l'activation des CML par la phényléphrine augmentant le module visqueux (Armentano et al., 1995b; Gamero et al., 2001; Peterson Lysle H. et al., 1960). De même, dans l'artère pulmonaire, Santana et coll. ont comparé les effets d'une HTAP aigüe induite par 2 méthodes pour évaluer le rôle propre du tonus musculaire dans les variations des propriétés mécaniques artérielles. Dans ces conditions isobariques, l'injection de phényléphrine qui entraîne une diminution du diamètre et donc probablement de la

contrainte, s'accompagne d'une augmentation de la viscosité, évaluée par η . A l'inverse, l'occlusion passive de l'artère pulmonaire par méthode mécanique, responsable d'une augmentation de pression comparable sans modification du diamètre, ne modifie pas la viscosité. Ceci suggère un rôle propre du tonus musculaire lisse dans l'augmentation de la viscosité indépendamment des conditions de pression (Santana et al., 2005).

A l'inverse, certaines études ne retrouvent pas de relation entre tonus musculaire lisse et VPA (Boutouyrie et al., 1998; Busse et al., 1976, 1981). Cependant, cette absence de lien pourrait s'expliquer par l'existence de variations de contrainte pariétale dans ces travaux. De plus, dans les études *in vitro*, l'augmentation du module visqueux lors de l'administration de norépinephrine est tout de même observée dans les conditions de faible contrainte et basse fréquence d'oscillation, les plus proches de la physiologie (Busse et al., 1981).

e. La fonction endothéliale

Certaines études suggèrent que l'endothélium participe à la régulation de la viscosité pariétale artérielle. Ainsi, chez l'animal, la dénudation endothéliale entraîne une augmentation de la viscosité absolue et relative évaluée par planimétrie et du module visqueux $\eta\omega$ (Armentano et al., 2001; Boutouyrie et al., 1997).

Le mécanisme par lequel l'endothélium participe à cette régulation n'est pas connu mais pourrait faire intervenir la libération de facteurs endothéliaux, pouvant eux même agir par un mécanisme tonique ou non. En effet, plusieurs travaux ont démontré que l'inhibition locale de la production de NO et des EETs avait un effet sur le tonus musculaire lisse et la mécanique des artères de conductance sans cependant évaluer spécifiquement la viscosité pariétale (Bellien et al., 2005). Les quelques études évaluant la viscosité pariétale au cours du vieillissement ou de pathologies s'accompagnant d'une dysfonction endothéliale présentent des conclusions variables et de nombreux facteurs confondants (cf. chapitres suivants) tels que les conditions de travail ou le tonus musculaire lisse.

4. Effets du vieillissement et de la pathologie sur la viscosité pariétale

a. Effet du vieillissement sur la viscosité pariétale

Quelques études ont évalué l'effet du vieillissement sur la composante visqueuse. Certains travaux *in vitro* retrouvent une augmentation du module visqueux avec l'âge, souvent parallèle à l'augmentation de E_{dyn} (Band et al., 1972; Learoyd and Taylor, 1966). Ce résultat est retrouvé dans une étude *in vivo* qui montre un coefficient de viscosité η plus élevé chez les sujets d'âge moyen ne faisant pas d'activité physique comparés aux plus jeunes (Kawano et al., 2013). Cette augmentation de la viscosité pariétale est prévenue par l'entraînement physique (Kawano et al., 2013). Concernant la boucle d'hystérèse, l'âge semble s'accompagner d'une diminution de la surface de la boucle traduisant une diminution du travail visqueux (Dobrin, 1978; Giannattasio et al., 2008). Ce résultat a été interprété comme le reflet du remplacement du muscle lisse par du tissu fibreux (Dobrin, 1978). Cependant, le vieillissement s'accompagne de modifications de géométrie et de pression (moyenne ou pulsée), donc de contrainte pariétale, et d'une augmentation de la rigidité artérielle, qui compliquent l'interprétation de l'effet de l'âge sur la boucle d'hystérèse. De plus, l'augmentation du module visqueux constatée par certains auteurs pourrait, du fait de la baisse de la distension avec le vieillissement (Benetos et al., 1993a; Hansen et al., 1995), aboutir à une baisse ou une stabilité de W_D calculé telle que proposé par Armentano et coll (Armentano et al., 2006). Dans ce contexte, une évaluation de l'effet de l'âge sur la viscosité pariétale des artères élastiques proximales, évaluée en termes d'énergie dissipée absolue et relative et tenant compte des conditions de travail artérielles, permettrait de clarifier ces résultats.

b. Effet de l'HTA sur la viscosité pariétale

L'effet de l'HTA sur la VPA a été évalué au moyen de modèles animaux et chez l'homme suggérant une augmentation du travail visqueux lors de l'HTA en lien avec l'augmentation du travail élastique (Albaladejo et al., 2004; Armentano et al., 1995a; Barra et al., 1997). Ainsi, la comparaison *in vitro* de bandes aortiques de rats hypertendus post-néphrectomie versus normotendus retrouvent une augmentation du module visqueux parallèle à celle du module élastique (Bandick and Sparks, 1970). De même, chez le rat spontanément hypertendu (SHR) le travail visqueux est augmenté par rapport au rat Wistar, mais le ratio entre l'énergie dissipée et l'énergie totale échangée par cycle est identique (Albaladejo et al., 2004). Le coefficient de viscosité est également augmenté chez le chien ayant une HTA réno-vasculaire (Barra et al.,

1997). De même, les études réalisées chez l'homme démontrent une augmentation de la viscosité absolue ou de η chez le patient hypertendu que ce soit au niveau carotidien, fémoral ou aortique (Armentano et al., 1995a; Stefanadis et al., 1997). Un des mécanismes proposés pour expliquer cette augmentation de viscosité est la présence d'une augmentation de l'EIM, au cours de l'HTA liée aux CML. En effet, l'hypertrophie et l'augmentation de la proportion de surface occupée par les CML seraient responsables de l'augmentation de viscosité absolue (Armentano et al., 1998). Cependant, après prise en compte de l'énergie totale et de l'augmentation du travail élastique chez le patient hypertendu, cette augmentation de viscosité absolue et donc de l'énergie dissipée s'accompagne en fait d'une augmentation équivalente de l'énergie emmagasinée résultant en un ratio comparable entre normo et hypertendus (Armentano et al., 2006). Ceci suggère plutôt que l'augmentation de la viscosité est un phénomène d'adaptation aux modifications de conditions de travail.

Au plan pharmacologique, les travaux chez l'animal ont montré que le blocage du système rénine angiotensine par l'énalapril ou un bloqueur du récepteur de l'angiotensine II dans l'HTA réno-vasculaire s'accompagne d'une normalisation du coefficient de viscosité (Barra et al., 1997). De même, chez l'homme, le traitement par IEC permet de réduire le travail visqueux mais également le travail élastique et donc de maintenir un ratio stable. Dans cette étude, les patients hypertendus présentaient une augmentation de la PP qui explique en partie l'augmentation du travail élastique (Armentano et al., 2006).

c. Effet du diabète sur la viscosité pariétale

Le diabète est associé à une diminution de la distensibilité aortique ou carotidienne (Duflot et al., 2019; Engelen et al., 2015; Sciatti et al., 2018; Tentolouris et al., 2003; Toutouzas et al., 2000; Zhang et al., 2014). De plus, il a été montré une augmentation de la rigidité artérielle mesurée par la VOP carotido-fémorale (Prenner and Chirinos, 2015). Cependant, après ajustement sur l'âge et la pression artérielle, il semble que le diabète ne soit pas le principal déterminant de la rigidité artérielle (Cecelja and Chowienzyk, 2009). Les mécanismes impliqués dans cette rigidité sont multiples, faisant intervenir notamment des modifications de la MEC (Sun et al., 2009), en partie sous l'effet des AGEs (Sell and Monnier, 2012), et une dysfonction endothéliale (Calver et al., 1992; Duflot et al., 2019; Prenner and Chirinos, 2015). A notre connaissance une étude a évalué de manière invasive au niveau aortique la dissipation d'énergie au cours du diabète. Dans ce travail, la viscosité absolue, évaluée par planimétrie de la boucle d'hystérèse de la relation pression-diamètre, n'était pas significativement modifiée

chez les patients diabétiques (Toutouzas et al., 2000). Cependant, dans cette étude la baisse de la distensibilité pourrait s'accompagner d'une baisse du travail élastique qui, en évaluant la viscosité relative, pourrait modifier les conclusions.

Certaines études fondamentales suggèrent que des modifications structurelles de l'élastine par des processus de glycation ou qu'une redistribution de l'eau liée à la forte concentration de glucose pourraient être responsables d'une augmentation de la viscosité relative et absolue des fibres élastiques (Wang et al., 2015). Par ailleurs, la dysfonction endothéliale constatée au cours du diabète pourrait également être responsable d'une perte des mécanismes de régulation actif de la viscosité chez les patients porteurs d'un diabète (Duflot et al., 2019).

5. Conséquences hémodynamiques de la viscosité pariétale : bénéfiques ou délétères ?

Les effets de la viscosité pariétale sur la forme des ondes de pression et de débit sanguin ont été étudiés au moyen de différents modèles mathématiques. Ces derniers ont permis de reconstruire le système cardio-circulatoire et de prédire dans les différents compartiments vasculaires la forme des ondes de pression et de débit (Reymond et al., 2009). La majorité de ces modèles considère un comportement mécanique artériel élastique pur, souvent linéaire, mais certains modèles ont inclus une composante viscoélastique (Gabaldon Castillo et al., 2016; Reymond et al., 2009; Wanga et al., 2013). Ces modèles ont pu être validés en montrant l'impact croissant du comportement viscoélastique sur les ondes de pression et de débit à mesure que l'on s'éloigne du cœur, c'est-à-dire pour les artères au contenu en CML le plus élevé (Reymond et al., 2009; Wanga et al., 2013). Dans ces modèles, l'augmentation de la composante rigide de l'équation mime parfaitement les conséquences de la rigidité sur les ondes de pression et de débit observées en pathologie du niveau aortique à fémoral. La modulation du paramètre de viscosité, en augmentant la valeur de l'angle de phase (de 5° à 15°) dans ces équations, s'accompagne d'une diminution de la PP liée à une baisse de la PAS et une augmentation de la PAD en progressant de l'aorte jusqu'à l'artère fémorale traduisant probablement la dissipation d'énergie dans la paroi. Parallèlement, apparaît une baisse de l'onde de débit en systole et une augmentation en diastole traduisant l'altération du gradient de pression le long de l'arbre artériel (He et al., 2012; Wanga et al., 2013). Ainsi, le rôle potentiel de la viscosité pariétale dans l'atténuation de l'onde de pression et du flux est suggéré. Cependant, aucune étude n'a évalué l'impact de la modulation de la viscosité sur ces paramètres in-vivo.

Ainsi, 2 hypothèses non exclusives existent concernant l'impact de la VPA sur le système cardiovasculaire. L'une considère que le phénomène visqueux va, par une dissipation excessive d'énergie impacter la fonction du ventricule gauche aboutissant en cas d'excès à une altération du couplage cardiovasculaire (Armentano et al., 2007; Boutouyrie et al., 1997; Grignola et al., 2007). A l'inverse, d'autres auteurs évoquent le possible rôle protecteur de cette dissipation d'énergie en atténuant les dommages liés à l'hyperpulsatilité sur la paroi artérielle ou les organes périphériques (Armentano et al., 2006). Ainsi, l'augmentation de l'énergie dissipée dans l'HTA est interprétée comme une adaptation à l'augmentation de l'énergie emmagasinée aboutissant à un ratio stable. Ceci permettrait un amortissement « intelligent » de l'énergie transmise à la paroi (Armentano et al., 2006, 2007). Dans l'HTAP, la dissipation d'énergie au sein de la circulation artérielle pulmonaire pourrait également limiter la pulsatilité au sein du capillaire pulmonaire (Grignola et al., 2007).

IV. La fréquence cardiaque

1. Automatisme cardiaque

La FC dépend de l'activité des cellules pacemakers du nœud sinusal. Le nœud sinusal est une structure hétérogène richement vascularisée et innervée. Il est donc très sensible à diverses influences qu'elles soient nerveuses (sympathique/parasympathique), hémodynamiques (pression, température) ou humorales (pH, CO₂, O₂, ionique, hormonal).

Les cellules pacemakers présentent des propriétés particulières d'automatisme spontané c'est-à-dire qu'elles sont capables de se dépolariser en l'absence de stimulus extérieur. Lors de la phase de repolarisation, le potentiel de membrane va atteindre un seuil minimal puis, la dépolarisation diastolique lente va permettre d'atteindre un seuil de dépolarisation responsable du déclenchement d'un nouveau potentiel d'action. Ainsi, la pente de dépolarisation diastolique lente va déterminer la fréquence de survenue des potentiels d'action et donc la FC. Plus la pente est accentuée plus la fréquence est rapide. La dépolarisation diastolique nécessite un courant entrant pour permettre la dépolarisation cellulaire. Ce courant entrant est généré par les canaux ioniques de la membrane plasmique (Mangoni and Nargeot, 2008).

Parmi eux, les canaux activés par l'hyperpolarisation, f-HCN (Hyperpolarisation-activated Cyclic Nucleotide-gated channels), sont responsables du « funny » courant I_f , nommé ainsi car c'est le seul courant voltage-dépendant n'étant pas activé par la dépolarisation (Accili et al., 2002). Le courant I_f est un courant net entrant cationique mixte (Na⁺ principalement et K⁺) qui s'active entre -50 et -80 mV. Son potentiel d'inversion est d'environ -30 mV expliquant son activation durant la fin de la repolarisation et au cours de la dépolarisation diastolique lente. Ainsi, lors de son activation, la pente va être accentuée augmentant la fréquence sinusale. Au court du temps, ce courant entrant va augmenter, expliquant l'augmentation progressive de la pente de la dépolarisation diastolique lente. L'activité de ce canal va dépendre de la concentration en adénosine monophosphate cyclique (AMPc). Ainsi, le courant I_f est régulé de manière opposé par les catécholamines et l'acétylcholine. En effet, l'activation des récepteurs β -adrénergiques stimule I_f par l'augmentation de l'AMPc qui va accélérer l'ouverture des canaux, accentuant la pente de dépolarisation et donc la FC. A l'inverse l'activation parasympathique (par les récepteurs muscariniques) va diminuer la concentration en AMPc et donc l'ouverture des canaux I_f entraînant une baisse de la FC. Il existe 4 isoformes des canaux f-HCN-1 à 4 qui diffèrent par leur voltage dépendance et leur sensibilité relative à l'AMPc (Savelieva and Camm, 2006).

Le courant I_f est essentiellement exprimé au sein du nœud sinusal chez l'ensemble des mammifères. Il a pu être retrouvé en petite quantité au sein du myocarde, et son expression a tendance à être augmentée au cours de l'HTA, de la fibrillation atriale et de l'insuffisance cardiaque chronique (Mangoni and Nargeot, 2008; Savelieva and Camm, 2006).

2. Déterminants de la fréquence cardiaque

Plusieurs situations sont associées à une augmentation de la FC. Ainsi, il est constamment retrouvé une FC plus élevée d'environ 5 bpm chez les femmes par rapport aux hommes (Morcet et al., 1999). Cette différence est en partie attribuée à une taille plus petite mais persiste après ajustement sur ce facteur suggérant d'autres mécanismes explicatifs.

L'avancée en âge est associée à une baisse de la FC à l'effort. Cette relation est moins démontrée pour la FC de repos qui elle est inchangée entre 15 et 75 ans. Cependant, après ajustement sur certains facteurs de risque (la pression artérielle notamment), une corrélation négative apparaît. Ceci suggère que l'augmentation, avec l'âge, des facteurs de risques positivement corrélés à la FC masque une baisse de FC liée à l'âge (Morcet et al., 1999).

Plusieurs situations pathologiques sont associées à une augmentation de la FC. Ainsi de nombreuses études ont démontré l'association entre HTA et tachycardie même après ajustement sur les facteurs confondants tels que l'indice de masse corporelle (IMC), l'âge ou certains paramètres métaboliques (Kristal-Boneh et al., 2000; Morcet et al., 1999; Palatini et al., 2016; Palatini Paolo, 2011). De plus, une FC élevée ou une élévation de la FC au cours du temps sont associées au développement futur d'une HTA suggérant plutôt que l'augmentation de FC est un facteur de risque de développement d'une HTA plutôt que l'inverse (Kim et al., 1999; Palatini et al., 2006).

Plusieurs études transversales ont également démontré qu'une FC élevée est un des marqueurs du syndrome métabolique car fréquemment associée à un IMC élevé, des taux élevés de glucose ou une hypercholestérolémie (Palatini et al., 1997). Cependant il n'existe pas de certitude sur le rôle exact de la FC dans ce phénomène, pouvant être la cause, la conséquence ou un épiphénomène. D'autres études ont montré qu'une FC élevée prédisposerait au développement d'un diabète de type 2 indépendamment, ou du moins en partie, de l'IMC, de l'activité physique ou du taux de glucose (Carnethon et al., 2008; Palatini et al., 2011; Shigetoh et al., 2009). Une hypothèse avancée pour expliquer cette association est le déséquilibre de la balance sympatho-vagale en faveur de l'activité sympathique (Fliers et al., 2003; Grassi et al., 2005; Landsberg, 2001). Ceci favoriserait la prise de poids, l'insulino-résistance et l'augmentation de la pression artérielle (Palatini et al., 2016).

Par ailleurs, l'augmentation de FC constatée dans l'insuffisance cardiaque est un mécanisme d'adaptation permettant d'assurer le maintien du débit cardiaque dans un contexte de réduction de la contractilité.

3. Marqueur ou facteur de risque cardiovasculaire ?

Un marqueur de risque correspond à l'association forte, universelle et indépendante d'une caractéristique d'un individu à l'incidence d'une pathologie. Pour être considéré comme un facteur de risque, un lien de causalité doit être démontré entre cette caractéristique et cette pathologie. Ce lien est généralement obtenu par l'étude des effets de la modulation de cette caractéristique sur la pathologie incidente.

De nombreuses données épidémiologiques ont montré que l'augmentation de la FC constitue un marqueur de risque de mortalité, cardiovasculaire ou non, que ce soit dans des populations générales ou chez des patients présentant une HTA, un diabète, une maladie coronarienne ou une insuffisance cardiaque congestive (Benetos et al., 1999; Böhm et al., 2010; Caetano and Delgado Alves, 2015; Courand and Lantelme, 2014; Fox et al., 2008b; Hillis et al., 2012; Kannel et al., 1987; Kristal-Boneh et al., 2000; Palatini et al., 2006). Chez les patients atteints de maladie coronaire stable avec fraction d'éjection ventriculaire abaissée, il existe une relation proportionnelle entre une majoration de la FC au repos et l'augmentation de la mortalité cardiovasculaire (Fox et al., 2008b). De même, dans une population d'insuffisant cardiaque à fraction d'éjection ventriculaire gauche basse, une FC élevée est associée à une mortalité cardiovasculaire ou à des taux de réhospitalisations pour insuffisance cardiaque supérieurs (Böhm et al., 2010). Chez les patients hypertendus ou pré-hypertendus, une relation linéaire existe entre l'augmentation de la mortalité et de la FC. Cependant, l'interaction complexe entre FC et les autres facteurs de risques, cardiovasculaires notamment, rend l'imputabilité propre de la FC difficile à démontrer (Benetos et al., 1999; Thomas et al., 2001a). Notamment, aucune étude n'a démontré qu'un traitement bradycardisant sélectif chez des patients indemnes de maladie cardiovasculaire mais présentant une FC élevée réduisait la survenue d'évènement cardiovasculaire ou de décès (Palatini et al., 2016). Ainsi, la FC est un marqueur de risque cardiovasculaire et très probablement un facteur de risque même si cela reste à démontrer de manière certaine.

4. Physiopathologie de l'effet délétère de l'augmentation de la FC

Au même titre que la PA, la FC constitue un des déterminants majeurs des conditions de travail du système cardiovasculaire. Ainsi, l'impact de la FC sur le fonctionnement du système cardiovasculaire constitue une des explications probables à ses conséquences en termes de morbi-mortalité.

a. Effet de l'augmentation de la FC sur la fonction cardiaque

La FC est un déterminant majeur du travail ventriculaire et de la consommation du myocarde en O₂. La perfusion myocardique se produisant principalement lors de la diastole, une augmentation de la FC est associée à une diminution de l'apport en O₂ du myocarde, par la diminution du temps diastolique (Custodis et al., 2013). Contrairement au temps systolique, la diminution du temps diastolique avec l'augmentation de la FC n'est pas linéaire, plus marquée pour les fréquences les plus basses (Boudoulas et al., 2015). Par ailleurs, la balance entre perfusion myocardique et besoin métabolique du myocarde est encore plus déséquilibrée en situation de stress, elle-même pourvoyeuse d'une tachycardie, ou dans certaines pathologies telles que l'hypertrophie ventriculaire gauche ou la maladie coronarienne (Fox et al., 2007; Tanaka et al., 1990). Enfin, la tachycardie altère également le remplissage ventriculaire qui s'effectue durant la diastole (Fox et al., 2007).

b. Effets de l'augmentation de la FC sur la fonction artérielle

En plus de ces conséquences cardiaques, la FC a des effets directs ou indirects sur le système vasculaire. Une hypothèse mécanique pure considère que l'augmentation de la FC augmente la contrainte pulsatile (FC x PP) et provoque une « fatigue » accélérée du matériau pariétal (Thomas et al., 2001b). Cependant d'autres effets ont été mis en évidence.

i. Effets pro-athérogènes de l'augmentation de la FC

Une partie de l'effet délétère de la FC élevée est en lien avec la survenue d'évènements ischémiques d'origine athéromateux (Lang et al., 2010). Le rôle de la FC dans la genèse et la progression de l'athérosclérose a été évoqué par Beere et coll. et depuis largement étudié (Beere et al., 1984; Custodis et al., 2010; Lang et al., 2010). La physiopathologie de ce processus est incomplètement connue mais semble jouer à plusieurs niveaux. L'étirement cyclique, majoré du fait de la FC élevée, influence l'expression phénotypique des CML dans un sens favorisant les processus pro-athéromateux et pro-rigidifiant (Haga et al., 2007). Ceci va favoriser les dépôts de collagène, de fibronectine, la majoration du stress oxydant et la sécrétion de facteurs de croissance et ostéogéniques (Courand and Lantelme, 2014; Lehoux, 2006; Lehoux et al., 2006; Palatini et al., 2016). Par ailleurs, les effets de la FC sur les forces de cisaillement vont également jouer un rôle majeur dans ces phénomènes. En effet, les forces de cisaillement induisent l'expression de profils génétiques endothéliaux pro ou anti-athérogènes : un flux non laminaire ou inverse a un effet délétère alors qu'un flux laminaire et des forces de cisaillement élevées protègent contre l'athérosclérose. Ainsi, le raccourcissement de la période diastolique lié à une FC élevée aboutit à une fréquence oscillatoire importante avec un cisaillement délétère et favorise l'expression de phénotypes athéromateux. Ceci a été montré dans des modèles in-vitro, un flux pulsatile très oscillant observé à FC élevée favorisant l'apparition d'un phénotype endothélial pro-inflammatoire et athérogène (Himburg et al., 2007; Zhang and Friedman, 2012, 2013). En plus de favoriser l'athérogénèse, ces oscillations de la contrainte de cisaillement favorisent également la rupture de plaque athéromateuse et donc les évènements cardiovasculaires ischémiques (Custodis et al., 2010). Enfin, comme nous l'avons vu précédemment, une FC élevée peut être le témoin de l'activation du système sympathique qui favorise le syndrome métabolique, un facteur de risque connu d'athérogénèse.

ii. Effets de l'augmentation de la FC sur la mécanique artérielle

Les effets de la FC sur la mécanique vasculaire sont complexes. Dans les études épidémiologiques, l'association entre FC et VOP est inconstante (50 % environ) (Benetos et al., 2002; Palatini and Parati, 2010; Sa Cunha et al., 1997). Ce résultat est peut-être expliqué par un faible impact de la FC sur la VOP comme suggéré dans l'étude ayant établi les valeurs de références de la VOP. Ainsi, l'augmentation de la FC s'associerait à une augmentation de la rigidité qui correspond à 1/10ème de l'effet de l'âge ou un quart de l'effet de la PAM (Tan et al., 2016b; The Reference Values for Arterial Stiffness', 2010). D'autres auteurs retrouvent une association entre l'augmentation de la FC de repos et la baisse de la distensibilité, plus marquée pour l'artère carotide que pour l'aorte (Whelton et al., 2013).

Au plan hémodynamique, une augmentation de FC s'accompagne d'une baisse du volume d'éjection systolique due à une baisse du temps de remplissage diastolique et du temps d'éjection (Albaladejo et al., 2001; Tan et al., 2016b; Weissler et al., 1961; Wilkinson et al., 2002b). Ainsi, lors du pacing, le débit cardiaque augmente alors que les résistances périphériques totales et le volume d'éjection systolique diminuent (Tan et al., 2016b).

Dans ces conditions, les effets d'une augmentation de la FC par pacing sur les pressions périphériques et centrales ont été évalués. Plusieurs auteurs ont montré une augmentation des pressions périphériques systolique, diastolique et moyenne avec l'augmentation de FC (Albaladejo et al., 2001; Millasseau et al., 2005; Tan et al., 2016b; Wilkinson et al., 2000). L'augmentation de la PAM s'expliquerait par une forte augmentation du débit cardiaque et une diminution moindre des résistances périphériques. Celle de la PAS serait due à l'augmentation de la PAD et du débit cardiaque tandis que celle de la PAD serait essentiellement secondaire à la diminution de la période. Au niveau central, on retrouve en général une augmentation de la PAM et de la PAD tandis que la PAS est stable voire baisse. En conséquence, le pacing s'accompagne d'une baisse de la PP centrale plus marquée que la PP périphérique (Maio et al., 2013; Stefanadis et al., 1998; Tan et al., 2016b; Wilkinson et al., 2002b). Ces effets sur les PP sont cependant modestes et inconstamment retrouvés (Green et al., 2002; Lantelme et al., 2002; Liang et al., 1999).

Par ailleurs, l'augmentation de la FC par stimulation cardiaque (pacing) et à l'effort s'accompagne d'une augmentation de la VOP. Il a ainsi été montré chez l'animal anesthésié que le lien, entre FC et rigidité artérielle existait pour des niveaux de PAM élevés mais pas pour les niveaux les plus faibles (Tan et al., 2012). En contrôlant, le niveau de pression par l'administration de SNP ou de phényléphrine, ces auteurs montrent que le pacing s'accompagne d'une augmentation de la VOP à PAM stable, et qu'une baisse de FC > 30 % après administration de zatebradine, un bradycardisant proche de l'ivabradine, s'accompagne d'une

diminution modeste mais significative de la VOP de 4,5 à 4,2 m/s. Ainsi, il semble exister une relation linéaire entre VOP et variation aiguë de FC indépendante de la PAM (Tan et al., 2012). Plus récemment, chez l'homme, Tan et coll. ont évalué les effets d'une augmentation aiguë de la FC par pacing sur la VOP après prise en compte des effets presseurs associés par différentes méthodes d'ajustement. Dans cette étude, les auteurs montrent qu'une augmentation de la FC de 10 bpm par le pacing est accompagnée d'une augmentation de la VOP de 0,17 m/s en moyenne (Tan et al., 2016b).

Cette augmentation de VOP avec la FC contraste avec la baisse de la PAS centrale et de l'index d'augmentation (AIX). En effet, il existe une relation linéaire entre l'AIX et la FC, montrant une baisse de 4% de l'AIX tous les +10 bpm (Lantelme et al., 2002; Maio et al., 2013; Stefanadis et al., 1998; Wilkinson et al., 2000). Dans un premier temps un artefact de mesure, a été évoqué pour expliquer l'augmentation de la VOP, l'augmentation de FC étant responsable d'une modification de la forme de la courbe de pression et donc pouvant aboutir à une détection du pied de l'onde différente lors de la mesure de la VOP à haute fréquence. Cependant, Millasseau et coll. ont écarté cette hypothèse en montrant que le lien entre FC et VOP était similaire avec 2 méthodes de mesure différentes de la VOP (pied de l'onde ou pente systolique maximale) et dans 2 situations différentes d'augmentation de FC (pacing ou isoprotenerol) (Millasseau et al., 2005). En fait, la baisse de l'AIX s'expliquerait essentiellement par la réduction du temps d'éjection liée à la tachycardie, qui s'accompagne d'une sommation avec l'onde réfléchie relativement plus tardive durant la systole (Custodis et al., 2010; Safar et al., 2014). De plus, lors du pacing, la vasodilatation artériolaire due au fait de l'augmentation du débit cardiaque participe à la baisse de l'AIX (Tan et al., 2016b).

Plusieurs travaux ont cherché à évaluer spécifiquement les effets de l'augmentation de la FC sur la rigidité intrinsèque artérielle. Ainsi, il a été montré *in vitro* une augmentation forte de E_{dyn} lors d'une stimulation sinusoïdale entre 0 et 2 Hz suivie de sa stabilisation pour des fréquences supérieures (Bergel, 1961b; Gow et al., 1974). *In vivo*, l'augmentation aiguë de la FC par le pacing entraîne une augmentation de la rigidité artérielle qui se traduit par une baisse de la distensibilité dans des modèles animaux (Giannattasio et al., 2003; Mangoni et al., 1996; Mircoli et al., 1999; Tan et al., 2012) ou chez l'homme (Tan et al., 2016b). De manière intéressante, Mircoli et coll. démontrent que ce phénomène est plus marqué pour les artères élastiques et n'implique pas le système nerveux autonome car survenant également après sympathectomie (Mircoli et al., 1999). A l'inverse, certains auteurs ont montré une augmentation de la distensibilité avec le pacing chez l'homme (Stefanadis et al., 1998), ou une stabilité du module élastique (Salvucci et al., 2007). Ces résultats contradictoires pourraient

s'expliquer par une baisse de la contrainte pariétale secondaire à une diminution du diamètre (Stefanadis et al., 1998). Certains auteurs suggèrent que l'augmentation de la rigidité avec la tachycardie pourrait s'expliquer par l'augmentation du phénomène visqueux sans cependant le montrer (Albaladejo et al., 2004; Antonov et al., 2008; Lantelme et al., 2002; Mangoni et al., 1996; Wilkinson et al., 2002b; Xiao et al., 2017). Le rôle de l'endothélium est pour sa part incertain, les rares études ayant évalué la fonction endothéliale lors du pacing retrouvent une augmentation de la dilatation induite par l'acétylcholine suggérant une augmentation de la disponibilité des facteurs vasodilatateurs et n'expliquant pas l'augmentation de rigidité (Maio et al., 2013).

La limite de cette méthodologie du pacing est de n'étudier qu'une augmentation aiguë de la FC et pas les effets à moyen ou à long terme. En conséquence, des approches proposant une réduction de la FC, aiguë mais surtout chronique, ont été proposées.

c. Effet de la réduction de la fréquence cardiaque sur la mécanique vasculaire

La réduction de la FC pourrait avoir un effet bénéfique sur la rigidité. Cependant, la majorité des travaux étudiant l'impact de la bradycardie sur la rigidité a été réalisée avec des traitements qui possèdent des effets presseurs, tels que les β -bloquants, rendant difficile l'interprétation de l'effet propre de la bradycardie (Boutouyrie et al., 2014). De même, le moindre bénéfice observé sur la diminution de pression centrale avec les traitements par β -bloquants au cours de l'HTA pourrait être lié à l'augmentation de phénomène de réflexion directement lié à la baisse de la FC (Boutouyrie et al., 2014; Messerli et al., 2016; Williams et al., 2009a). De plus, l'effet bénéfique de l'activité physique (connu pour réduire la FC) sur les modifications vasculaires liées à l'âge a été démontré sans pour autant isoler le rôle spécifique de la réduction de la FC (Tanaka et al., 2000).

i. Les β -bloquants

Les β -bloquants ont longtemps constitué des candidats de choix pour évaluer l'impact de la diminution de la FC sur les événements cardiovasculaires et la mortalité ainsi que les mécanismes impliqués. Ainsi, alors que le bénéfice des β -bloquants en post infarctus du myocarde ou dans l'insuffisance cardiaque à fraction d'éjection altérée est acquis (Chatterjee et al., 2013; Cucherat, 2007), les résultats dans l'HTA ou dans la cardiopathie ischémique stable sont plus controversés ayant même amené à rétrograder cette classe thérapeutique en troisième ligne de traitement dans l'HTA (Bangalore et al., 2008, 2012, 2014; Khan and McAlister, 2006;

Williams et al., 2018). Ce moindre bénéfice voire un effet délétère semble plus marqué chez le sujet âgé, notamment du fait d'une augmentation du risque d'accident vasculaire cérébral (Khan and McAlister, 2006). Par ailleurs, les effets presseurs de ces traitements rendent complexe l'interprétation du rôle propre de la FC dans ces résultats. Ainsi, la réduction de la rigidité artérielle évaluée par la mesure de la VOP sous β -bloquants chez l'hypertendu semble liée pour moitié aux effets presseurs et pour moitié à l'effet de la FC (Boutouyrie et al., 2014). Cependant, plusieurs études ont montré que le bénéfice attendu avec la réduction de la FC est contrebalancé par un effet moindre des β -bloquants par rapport aux autres traitements antihypertenseurs sur la réduction des pressions centrales. En effet, chez l'hypertendu, pour des réductions similaires de pressions artérielles périphériques et de VOP, les β -bloquants présentent une réduction moindre de la PAS centrale comparativement aux autres classes d'antihypertenseurs (Liu et al., 2013; Manisty and Hughes, 2013; McGaughey et al., 2016; Williams et al., 2009a). Ce résultat est retrouvé même en cas d'association avec d'autres antihypertenseurs (Boutouyrie et al., 2010; Manisty and Hughes, 2013). A l'inverse de ce qui est observé lors du pacing, l'explication de ce phénomène est que la diminution de la FC s'accompagne d'une augmentation du temps d'éjection, augmentant la probabilité que l'onde de réflexion se superpose au début de l'onde incidente. Ceci se traduit par une augmentation de l'Aix (Liu et al., 2013; Manisty and Hughes, 2013; McGaughey et al., 2016; Williams et al., 2006). En plus de cet effet fréquence-dépendant, à plus long terme et contrairement aux autres classes thérapeutiques, les β -bloquants ne réduisent pas les résistances périphériques totales et n'induisent pas un remodelage des artères de conductance ou des petites artères conduisant ainsi à l'absence de réduction de l'onde de réflexion (Asmar et al., 2001; Boutouyrie et al., 2010; Schiffrin, 2004). Il existe cependant des différences entre les classes de β -bloquants, la troisième génération étant associée à une moindre augmentation de l'Aix en lien avec leur effet vasodilatateur sur les artères périphériques (Kampus et al., 2011; Liu et al., 2013; Mahmud and Feely, 2008; McEniery et al., 2004). Cette amélioration plus marquée de la fonction endothéliale sous β -bloquants de 3ème génération est également attestée par l'amélioration de la dilatation endothélium-dépendante (Peller et al., 2015).

ii. Les inhibiteurs calciques bradycardisants :

Du fait de leurs propriétés vasodilatatrices, bradycardisantes et inotropes négatives, le vérapamil et le diltiazem ont constitué des candidats potentiels dans le traitement des pathologies coronariennes et de l'HTA. Cependant, l'absence de bénéfices en termes de mortalité ou d'évènements cardiovasculaires chez les patients hypertendus et des effets modestes dans la cardiopathie ischémique, ont limité leur utilisation (Messerli et al., 2016). De plus, les rares études évaluant le fonctionnement vasculaire sous ces traitements ne retrouvent pas de bradycardie au repos, empêchant une analyse des effets de la réduction de la FC (Kähönen et al., 1998; Stefanadis et al., 1997; Williams et al., 2012).

5. L'ivabradine

L'ivabradine est le seul inhibiteur du courant *I_f* actuellement disponible au plan thérapeutique. Par son action inhibitrice sur ce courant, il atténue la pente de dépolarisation au sein du nœud sinusal réduisant ainsi la FC (Savelieva and Camm, 2006). Son action est importante lorsque le canal est ouvert/activé, c'est à dire que la dépolarisation est importante et donc que la FC est élevée. A l'inverse, l'action de l'ivabradine est limitée lorsque le canal est fermé. L'ivabradine agit spécifiquement sur le courant *I_f*. Ainsi, à des doses thérapeutiques, il n'existe aucune modification significative de la conduction sino-atriale, atrio-ventriculaire ou intra-ventriculaire. De plus, il n'existe pas d'effet sur la pression artérielle périphérique ni sur l'inotropisme cardiaque. En conséquence, cette molécule constitue une thérapeutique de choix pour lutter contre les effets délétères de l'élévation de la FC mais également un outil pharmacologique idéal pour évaluer les effets propres de la FC sur le système cardiovasculaire.

a. Pharmacocinétique et pharmacodynamie de l'ivabradine

L'ivabradine présente une pharmacocinétique linéaire pour une dose orale entre 0,5 et 40 mg et lors d'un bolus IV de 1 à 24 mg (Ragueneau et al., 1998; Savelieva and Camm, 2006). L'absorption de l'ivabradine est rapide et quasi complète après administration orale, avec un pic de concentration plasmatique atteint en 1 heure environ à jeun. La biodisponibilité est proche de 40 %, en raison de l'effet de premier passage intestinal et hépatique. Après l'administration chronique de la dose recommandée de 5 mg deux fois par jour, les concentrations plasmatiques maximales et moyennes sont respectivement d'environ 22 ng/ml et de 10 ng/ml. L'ivabradine est fortement métabolisée par le cytochrome P450 3A4 (CYP450

3A4) au niveau hépatique et intestinal en un métabolite actif principal (S18982). Ce métabolite actif est également métabolisé par le CYP3A4. L'ivabradine n'a pas d'effet cliniquement significatif d'inhibition ou d'induction de ce cytochrome CYP3A4 du fait de sa faible affinité. En revanche, les inhibiteurs et les inducteurs puissants du CYP3A4 sont susceptibles de modifier les concentrations plasmatiques de l'ivabradine. L'ivabradine est éliminée avec une demi-vie plasmatique principale de 2 heures et une demi-vie effective de 11 heures. Il existe une relation quasi linéaire entre les concentrations plasmatiques d'ivabradine et de S18982 et la baisse de la FC, pour des doses allant jusqu'à 15 à 20 mg deux fois par jour. À des posologies plus élevées, la baisse de la FC n'est plus proportionnelle à celle de la concentration plasmatique d'ivabradine et tend vers un plateau (ANSM/EMA, 2015; Savelieva and Camm, 2006).

b. Effets cardiaques de l'ivabradine

Contrairement aux β -bloquants, l'ivabradine n'exerce aucun effet sur la contractilité myocardique que ce soit au repos ou lors de l'exercice. Ainsi la diminution de la FC associée à un maintien de la contractilité induit une augmentation du volume éjecté permettant de préserver le débit cardiaque (Savelieva and Camm, 2006). De plus, par son effet sur l'allongement de la diastole, l'ivabradine va favoriser le remplissage du ventricule gauche et la perfusion coronaire. Par ailleurs, l'augmentation du diamètre coronarien moyen induit par l'exercice est maintenu, contrairement à ce qui est observé sous β -bloquants, permettant le maintien d'une perfusion coronaire à l'effort (Simon et al., 1995). De même, il n'existe pas d'altération du débit cardiaque ou du volume éjecté à l'effort, même à des doses élevées (Joannides et al., 2006a; Simon et al., 1995). Les propriétés anti-ischémiques de ce traitement sont donc en lien avec la réduction de la FC permettant à la fois la réduction de la consommation en oxygène du myocarde mais également l'amélioration de sa perfusion. De plus, l'ivabradine s'accompagne d'une amélioration de la dysfonction ventriculaire gauche au cours de l'insuffisance cardiaque, diminue le remodelage collagène post-infarctus et semble être bénéfique sur le risque de rupture de plaques athéromateuses (van Hoof et al., 2017; Maczewski and Mackiewicz, 2008; Mulder and Thuillez, 2006; Mulder et al., 2004).

En conséquence, l'ivabradine est déjà utilisée au plan thérapeutique avec succès chez les patients avec FC de repos élevée, souffrant d'insuffisance cardiaque systolique et chez les malades souffrant d'insuffisance coronaire stable associée à une fraction d'éjection basse (Fox et al., 2008a; Swedberg et al., 2010). Ces études ont respectivement démontré une réduction du critère composite de mortalité cardiovasculaire et des réhospitalisations pour insuffisance

cardiaque et une réduction des réadmissions pour infarctus du myocarde. De même, l'ivabradine a démontré un effet bénéfique sur la tolérance à l'effort chez des patients porteurs d'une insuffisance cardiaque à fraction d'éjection conservée et sur le remodelage du ventricule gauche (Kosmala et al., 2013; Tardif et al., 2011), sans cependant d'effet significatif à moyen terme sur des critères d'amélioration clinique, biologique (NT-proBNP) ou échographique (Komajda et al., 2017). Par ailleurs, l'étude SIGNIFY chez les coronariens stables à fraction d'éjection préservée a tempéré ces bons résultats ne retrouvant pas de bénéfice de l'ivabradine par rapport placebo en termes d'évènements cardiovasculaires voire un effet délétère dans la sous-population de coronariens symptomatiques, restreignant leur prescription (Fox et al., 2014). Ces résultats contrastés malgré un effet bénéfique net de l'ivabradine sur le fonctionnement cardiaque ont amené à s'interroger sur les effets vasculaires de la réduction de la FC.

c. Effets vasculaires de l'ivabradine

En plus des effets de la bradycardie sur la perfusion coronaire et la diminution de la consommation du myocarde en oxygène, les bénéfices observés dans ces études pourrait être liés aux effets vasculaires de l'ivabradine.

Chez des patients insuffisants cardiaques à fraction d'éjection basse, certains auteurs ont évalué de façon indirecte les effets vasculaires de l'inhibition du courant I_f (Reil et al., 2013). Dans cette étude, les patients qui avaient la plus haute FC présentaient une diminution de leur compliance totale (mesurée comme le rapport du volume systolique à la PP périphérique), et ce paramètre était amélioré par l'ivabradine. Ces résultats ont été complétés, par d'autres équipes, retrouvant chez des patients ayant un traitement optimal de l'insuffisance cardiaque, une amélioration du couplage cardiovasculaire en lien avec une amélioration de l'élastance artérielle et une baisse de la rigidité aortique, évaluée par la distensibilité aortique systolo-diastolique sous ivabradine (pendant 4 ou 12 mois) comparée au placebo (Bonadei et al., 2018; Nar et al., 2015). Cependant, dans ces études, le fonctionnement vasculaire était évalué par des paramètres vasculaires indirects ou par une mesure de la géométrie aortique sans évaluation concomitante de la pression locale. Or, l'insuffisance cardiaque à fraction d'éjection altérée s'accompagne d'une baisse importante des pressions centrales. Il n'existe pas, à notre connaissance, d'étude spécifique de l'effet de l'ivabradine sur les pressions centrales dans cette pathologie.

Les effets vasculaires de l'ivabradine dans la cardiopathie ischémique stable sont plus complexes à analyser. Plusieurs études animales ont montré que la diminution de la FC par inhibition du courant I_f entraînait une augmentation de la relaxation endothéliale et une amélioration des propriétés élastiques des artères de conductance (Bolduc et al., 2011; Custodis et al., 2008, 2012; Drouin et al., 2008). De plus, l'administration chronique d'ivabradine pendant 6 mois chez des patients porteurs d'une cardiopathie ischémique diminue la VOP et augmente la distensibilité aortique (Hohneck et al., 2019). Dans le même temps, l'AIX et la PAS centrale augmentent sans que les pressions périphériques ne soient modifiées (Hohneck et al., 2019). Cette augmentation de la PAS avait déjà été constatée dans une autre étude et pourrait expliquer l'absence de bénéfice clinique de l'ivabradine au cours de la cardiopathie ischémique stable (Rimoldi et al., 2016). En effet, comme discuté pour les β -bloquants, ce phénomène d'altération du couplage cardiovasculaire et d'augmentation des pressions centrales peut être attribué à l'augmentation du temps d'éjection aboutissant à la sommation durant la systole de l'onde de pression incidente et de l'onde réfléchie. Cependant, ces résultats sont controversés, l'augmentation de PAS centrale étant inconstamment retrouvée (Dillinger et al., 2015; Lopatin and Vitale, 2016).

Plusieurs études ont montré un effet bénéfique de l'ivabradine sur l'endothélium dans différents segments artériels chez l'animal et pourraient donc expliquer l'amélioration de la rigidité artérielle observée (Custodis et al., 2008; Drouin et al., 2008; Kröller-Schön et al., 2011). Chez l'homme, les résultats sont plus controversés, certains auteurs ne retrouvant pas d'amélioration de la dilatation endothélium-dépendante (Jochmann et al., 2014; Nerla et al., 2012) alors que d'autres oui, mais pour des durées plus longues de traitement, i.e. 4 semaines vs. 8 semaines ou 6 mois (Hohneck et al., 2019; Mangiacapra et al., 2016). Un effet bénéfique de l'ivabradine sur l'endothélium a également été retrouvé en utilisant le dispositif endoPAT (Jedlickova et al., 2015).

Ces effets pourraient passer par une amélioration de la contrainte de cisaillement mais également par une diminution de la déformation cyclique des artères modifiant la capacité des cellules endothéliales à libérer des facteurs endothéliaux, à remodeler la MEC ou à interagir avec les CML (Califano and Reinhart-King, 2010; Cummins et al., 2006; Haga et al., 2007; Hutcheson and Griffith, 1991; Lamontagne et al., 1992). Les effets de la bradycardie pourraient également passer par des effets directs sur le phénotype des CML, sensibles au stress cyclique (Haga et al., 2007). En outre, certains travaux expérimentaux d'ischémie-reperfusion cardiaque

chez la souris suggèrent un effet pleïotrope de l'ivabradine, indépendant de la FC, qui serait médié par une baisse du stress oxydatif (Kleinbongard et al., 2015).

Enfin, il n'existe, à notre connaissance, aucune étude évaluant le bénéfice de l'ivabradine chez le patient hypertendu présentant une FC élevée même si quelques travaux chez l'animal suggèrent un bénéfice dans l'HTA. Ainsi, on observe une diminution de l'hypertrophie pariétale de l'aorte thoracique chez le rat spontanément hypertendu suggérant un effet bénéfique sur le remodelage (Albaladejo et al., 2003). Le bénéfice réel de ces changements reste cependant à déterminer chez l'homme car il pourrait être contrebalancé par les effets délétères de l'augmentation de la PAS centrales liée à la bradycardie.

d. Viscosité pariétale et ivabradine

L'effet de la FC sur la mécanique artérielle pourrait également être en lien avec la composante visqueuse artérielle. Comme nous l'avons vu dans le chapitre III.3.a, plusieurs études ont évalué les effets de la modulation de la FC in vitro ou in vivo par le pacing et, à notre connaissance, une seule étude chez le rat normotendu et spontanément hypertendu (Albaladejo et al., 2004), a évalué l'effet de l'ivabradine sur la viscosité pariétale. Cette dernière a montré une augmentation de la viscosité secondaire à l'administration aiguë d'ivabradine sans augmentation du module élastique.

Enfin, aucune étude n'a été réalisée sur la composante visqueuse chez le volontaire sain, et sur les effets précoces non structurels de la diminution de la FC. L'effet de la réduction pharmacologique de la FC sur les modifications vasculaires liées à l'âge n'a également jamais été démontré.

OBJECTIFS GENERAUX

Ainsi, comme nous l'avons vu, la composante visqueuse de la viscoélasticité artérielle a été moins étudiée chez l'homme, que la composante élastique. Cette composante visqueuse participe à la dissipation d'une partie de l'énergie élastique emmagasinée au cours du cycle cardiaque. De ce fait, une augmentation de la viscosité pariétale au cours du vieillissement ou de pathologies telles que l'HTA pourrait constituer un mécanisme délétère altérant l'efficacité du couplage cardio-circulatoire. A l'inverse, une baisse de cette composante pourrait avoir un effet délétère sur la paroi artérielle ou les organes périphériques en n'atténuant pas suffisamment l'énergie élastique emmagasinée par la paroi artérielle. Dans ce contexte, l'évaluation de ce paramètre chez l'homme en physiologie et au cours du vieillissement normal ou accéléré est nécessaire. De plus, l'identification des déterminants de la viscosité pariétale et la recherche de cibles pharmacologiques modifiant spécifiquement la viscosité semblent pertinents.

Ainsi, les objectifs généraux de ce travail sont :

- D'évaluer la viscosité pariétale au niveau des artères de conductance chez le sujet jeune mais également au cours du vieillissement et de l'HTA,
- De déterminer le rôle de l'endothélium et du tonus musculaire dans la régulation de la viscosité pariétale à l'état basal et stimulé,
- D'évaluer l'effet de la réduction pharmacologique de la FC sur la viscosité pariétale et l'impact du vieillissement sur cet effet.

METHODOLOGIE GENERALE

Les mesures ont été réalisées le matin, chez des sujets en position allongée, dans une pièce calme, climatisée et maintenue à température constante entre 22 et 24°C. Les sujets n'avaient pris ni traitement, ni tabac, et pouvaient prendre un petit-déjeuner léger, c'est à dire sans matière grasse, ni sucre, café ou thé.

Les pressions artérielles humérales systolique (PAS) et diastolique (PAD) ont été mesurées par oscillométrie (Omron® 750IT) et la FC par électrocardiographie (Phillips®).

I. Mesure de la viscosité pariétale au niveau de l'artère radiale

Les paramètres artériels ont été mesurés au niveau de l'artère radiale droite, le bras immobilisé confortablement dans une gouttière pendant la totalité de la procédure afin d'éviter les mouvements involontaires. Le diamètre interne et l'EIM de l'artère radiale ont été mesurés au moyen d'un système d'écho-tracking vasculaire haute résolution, en mode A (NIUS02), permettant une mesure à une fréquence d'acquisition de 250 Hz tout au long du cycle cardiaque avec une résolution supérieure à 1 µm. La mesure était réalisée au moyen d'une sonde de 10 MHz, maintenue immobile à l'aide d'un dispositif stéréotaxique sans contact direct avec la peau, positionné perpendiculairement à l'artère. Le positionnement exact de la sonde était effectué au moyen d'un dispositif doppler bidirectionnel (Joannides et al., 1995a, 1997; Tardy et al., 1991). La pression artérielle a été mesurée simultanément par photopléthysmographie digitale (Finapres system, Olmeda). Ce dispositif permet la mesure de la pression artérielle en continu et l'obtention de façon non invasive de l'onde de pression intra-artérielle avec une précision de ± 2 mmHg.

L'évaluation de la viscosité pariétale a été réalisée par la mesure de la boucle d'hystérèse de la relation pression-diamètre après développement d'une méthode d'analyse partiellement automatisée (Excel®). Les fichiers ASCII générés contenant les données de pression, de diamètre et d'épaisseur ont été extraits et analysés dans une feuille de calcul Excel®. Les pieds des ondes de pression et de diamètre ont été identifiés automatiquement par la valeur la plus basse précédant l'ascension systolique permettant ainsi de définir le début et la fin de chaque cycle. La synchronisation entre les 2 courbes a été effectuée manuellement afin d'obtenir une superposition des pieds d'ondes et de la phase ascendante de chaque courbe. Ceci permet de corriger le décalage inhérent à la mesure en 2 sites distincts. Les boucles pression-diamètre ont

été générées automatiquement ainsi que les droites correspondants au diamètre et à la pression systolo-diastoliques. Ces courbes ont été exportées dans le logiciel d'analyse d'image Image J® qui permet l'évaluation du nombre de pixels au sein d'une surface. Ainsi, le nombre de pixels au sein de la boucle et l'aire sous la courbe de charge ont été mesurées. La valeur d'un pixel a été évaluée par la mesure du nombre de pixels au sein d'un rectangle de surface connue. La précision de la méthode est donnée par la précision de la mesure de pression et de diamètre (2 mmHg et 1 µm) et peut être estimée à $2,66 \cdot 10^{-4} \text{ J.m}^{-2}$. La précision de l'analyseur d'image est d'un pixel-carré est peut être estimé pour nos mesures à $1,62 \cdot 10^{-6} \text{ J.m}^{-2}$ et peut donc être considéré comme négligeable.

Pour chaque mesure, au moins 3 cycles cardiaques ont été analysés.

L'aire W_V de la boucle d'hystérèse correspond à la quantité d'énergie dissipée lors de chaque cycle cardiaque. L'aire W_E sous la courbe de charge correspond à l'énergie emmagasinée lors de la phase de charge. La viscosité de la paroi a été exprimée soit comme la valeur absolue de W_V , soit en pourcentage de l'énergie emmagasinée W_E à chaque cycle (W_V/W_E).

II. Évaluation de la mécanique artérielle radiale

Les paramètres mécaniques artériels ont été calculés au niveau radial à partir du modèle de Langewouters. A partir des données de pression (P), de diamètre interne (d) et d'épaisseur pariétale (h) mesurées sur 10 cycles cardiaques consécutifs, la relation pression-section a été ajustée selon un modèle non linéaire telle que (Langewouters et al., 1984; Tardy et al., 1991):

$$S(P) = \alpha(\pi/2 + \text{tang}^{-1}(P - \beta/\gamma)), S = \pi d^2/4$$

où α, β et γ sont les trois constantes du modèle calculées par régression non linéaire.

La compliance sectionnelle instantanée, a alors été calculée comme étant égale à :

$$C(P) = \delta S(P)/\delta P = (\alpha/\gamma)/[1 + ((P - \beta)/\gamma)^2]$$

Le module incrémental de paroi a été calculé en utilisant le même modèle à partir de l'expression classique donnée par Bergel pour évaluer la rigidité artérielle au niveau de la pression opérationnelle telle que (Bergel, 1961a; Meister et al., 1992):

$$E_i = 3/8 \cdot (d(d+2h)^2)/(h(d+h)) \delta P/\delta d = (3/(4 \times D(P))) \times ((d+2h)^2/(h(h+d)))$$

La contrainte sectionnelle à mi-épaisseur (σ), qui caractérise les conditions opérationnelles en lien avec la pression et la géométrie a été calculée telle que :

$$\sigma = 2.PAM(r_i.r_e/r)^2/(r_e^2-r_i^2),$$

avec PAM la pression artérielle moyenne et r_i et r_e les rayons interne et externe respectivement, et r le rayon à mi-épaisseur tel que $r = (r_i+r_e)/2$.

III. Évaluation du rôle des facteurs endothéliaux et de la régulation endothélium-indépendante du tonus musculaire lisse dans la régulation de la viscosité pariétale

La perfusion de sérum salé (0,9 %) ou de substances pharmacologiques inhibitrices (1 mL/min) a été réalisée par une aiguille de 27-gauge, insérée sous anesthésie locale (Lidocaïne 1 %) dans l'artère humérale. Les participants ont reçu pendant 8 minutes un inhibiteur de NO-synthase, le L-NMMA (8 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{L}$, Bachem®), un inhibiteur de l'enzyme cytochrome P450 epoxygénases qui synthétise les EETs, le fluconazole (0,4 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{L}$, Pfizer Holding France®), un bloqueur non spécifique des canaux K_{Ca} vasculaire qui constituent la cible pharmacologique des EETs et qui médient leur effet hyperpolarisant et vasorelaxant, le TEA (9 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{L}$, Bachem®), ou l'association L-NMMA et fluconazole ou L-NMMA et TEA. Les doses ont été adaptées au volume de l'avant-bras de chaque volontaire, évalué par la mesure du volume d'eau déplacé après immersion. Ces doses ont été démontrées comme permettant la modulation des propriétés mécaniques de l'artère radiale sans effet systémique (Bellien et al., 2005). L'efficacité de l'inhibition pharmacologique a été validée par le dosage des taux d'EETs par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse et des taux de nitrites, un indicateur de la biodisponibilité du NO, par chimiluminescence, avant et après fluconazole et L-NMMA respectivement (Bellien et al., 2006a, 2012a; MacArthur et al., 2007). L'impact de la régulation endothélium-indépendante du tonus musculaire lisse sur la viscosité pariétale a été évaluée par l'administration de SNP (20 nmol/min/L, 3 min, SERB Laboratory®), un donneur exogène de NO. Cette dose permet une relaxation du muscle lisse de l'artère radiale sans effet systémique (Bellien et al., 2005).

IV. Épreuves de stimulation endothéliale

Les épreuves de stimulation de l'endothélium ont été réalisées par une augmentation graduelle et soutenue du débit sanguin locale par la méthode du chauffage cutané distal (Bellien et al.,

2006b; Joannides et al., 2002). La main des volontaires a été placée dans un gant fin en latex puis immergée dans un bac rempli d'eau dont la température était contrôlée. Le chauffage a été réalisé en augmentant par pallier la température de l'eau de 34°C à 44°C.

La viscosité sanguine totale (μ) a été mesurée pour chaque sujet en utilisant un viscosimètre cône-plan (Ex100 CTB, Brookfield®) pour un taux de cisaillement de 241 s⁻¹ à 37°C (Baskurt et al., 2009).

La contrainte de cisaillement moyenne a été calculée sur la base d'un modèle répondant à la loi de Poiseuille à partir des valeurs individuelles de diamètre interne (d_i), de débit (Q) et de viscosité sanguine totale (μ) au niveau de l'artère radiale, telle que $\tau = 4\mu Q / \pi r_i^3$ avec $r_i = d_i/2$.

V. Mesure de la viscosité pariétale au niveau de l'artère carotide commune

La mesure de la viscosité pariétale au niveau de l'artère carotide commune a été développée à l'occasion de ce travail au sein du service de pharmacologie. Elle consiste à mesurer simultanément et en continu la pression locale par tonométrie d'aplanation et le diamètre par écho-tracking au même niveau des carotides droite et gauche respectivement (Benetos et al., 1993b; Laurent et al., 1994; Maltete et al., 2010). Ces mesures permettent d'établir la relation pression-surface. Des études précédentes ont montré l'absence d'influence du côté de mesure sur les résultats lors d'une mesure bilatérale des signaux de pression et de diamètre (Laurent et al., 1994). Toutes les mesures ont été réalisées par le même binôme d'opérateur, expérimenté l'un pour la tonométrie et l'autre pour l'échographie. Ainsi, l'onde de pression de la carotide commune droite a été enregistrée de manière non invasive par tonométrie selon une méthodologie validée (Laurent et al., 1994; Maltete et al., 2010). Le tonomètre est une sonde-stylo contenant un transducteur haute-fidélité (Millar Instruments SPT 301B®) équipé d'une petite surface sensible à la pression. Le tonomètre est calibré avec un préamplificateur conventionnel Millar (TCB-500) puis le signal est transféré simultanément vers un ordinateur permettant la visualisation des courbes de pression et vers le système d'écho-tracking.

Simultanément, le diamètre externe et l'EIM sont mesurés au niveau de la paroi postérieure de l'artère carotide gauche, 1 cm en dessous de la bifurcation carotidienne avec un appareil d'écho-tracking haute résolution (WallTrackSystem, Esaote Pie Medical®) (Maltete et al., 2010; Meinders and Hoeks, 2004). Une sonde multi-barrette linéaire de 40 mm à 7,5 MHz a été utilisée. Ce système génère une image basée sur le signal de radiofréquence provenant de 128 lignes réparties sur les 4 cm de la sonde. L'opérateur définit la fenêtre d'acquisition centrée sur

la lumière et peut la faire varier afin d'optimiser la détection du diamètre et de l'EIM. Le mode d'acquisition bidimensionnel (BM) permet de mesurer le diamètre externe et l'EIM avec une résolution de 21 μm pour chacune des 128 lignes pendant 6 secondes à une fréquence d'acquisition de 30 Hz. Le mode de détection de mouvement pariétal permet de mesurer pendant 5 secondes, sur 2 cm et 14 lignes, le diamètre externe et la distension avec une résolution de 1,7 μm à une fréquence d'acquisition de 600 Hz (Meinders and Hoeks, 2004; Paini et al., 2007).

Après s'être assuré avec l'opérateur faisant la tonométrie de la qualité de l'acquisition de pression concomitante, l'opérateur faisant l'échographie « gèle » l'acquisition en cours permettant d'obtenir un enregistrement des 6 dernières secondes. Le signal de pression est automatiquement converti à la fréquence d'acquisition de l'appareil d'écho-tracking.

Un fichier ASCII est ensuite généré comprenant les valeurs brutes de variations de pression et de diamètre acquises. Ce fichier est ensuite transféré dans une feuille de calcul Excel® partiellement automatisée à l'aide de macro qui permet le calcul des valeurs absolues de pressions. Le tonomètre est calibré pour fournir les variations absolues de pression et non les valeurs absolues de pression instantanée. Pour cela, il a été nécessaire de déterminer ces valeurs absolues pour chaque point de la courbe de pression. Ainsi, la PAD et la PAM ont été déterminées au niveau de l'artère humérale par oscillométrie. Puis, la PAD et la PAM étant constantes le long de l'arbre artériel, la moyenne de l'ensemble des valeurs mesurées (V_{moy} , en mV) d'un cycle de pression (défini comme l'ensemble des points entre le pied de l'onde de pression et le pied de l'onde suivante) correspond à la valeur de la PAM et le minimum des valeurs mesurées (V_{min} , en mV) de chaque cycle correspond à la PAD. Ainsi, le coefficient ζ relie la variation des valeurs mesurées ($\Delta V = V_{\text{moy}} - V_{\text{min}}$) et la variation de pression mesurée ($\Delta P = \text{PAM} - \text{PAD}$) tel que $\zeta = \Delta P / \Delta V$ pour chaque cycle. La valeur des pressions instantanées (P_{inst}) est alors calculée pour chaque cycle à partir de chaque valeur mesurée (V_{inst}) telle que :

$$P_{\text{inst}} = \text{PAD} + \zeta (V_{\text{inst}} - V_{\text{min}})$$

La réalisation de la boucle pression-surface interne suppose l'obtention de la surface interne (luminale) à partir du diamètre externe et de l'EIM. Ainsi, il a été décidé de calculer l'EIM instantanée et la surface interne instantanée $S_{i(\text{inst})}$ à partir du diamètre externe instantané ($d_{e(\text{inst})}$) et de l'EIM moyenne, en partant du principe que la paroi est incompressible. Ainsi, la surface de la section pariétale (S_{section}) reste constante tout au long du cycle cardiaque, on peut donc la calculer telle que :

$$S_{\text{section}} = \pi r_e^2 - \pi r_i^2 \text{ avec } r_e = d_{e(\text{moy})}/2 \text{ et } r_i = (d_{e(\text{moy})} - 2h_{\text{moy}})/2$$

Où r_e le rayon externe, r_i le rayon interne, $d_{e(\text{moy})}$ le diamètre externe moyen et h_{moy} l'EIM moyenne mesurée lors l'acquisition.

Puis, S_{inst} a été calculée telle que :

$$S_{i(\text{inst})} = \pi r_e^2 - S_{\text{section}}$$

A partir de ces données les valeurs d'EIM instantanée et de diamètre interne instantané sont calculables :

$$d_{i(\text{inst})} = 2 \cdot \sqrt{\frac{S_{i(\text{inst})}}{\pi}}$$

et

$$EIM_{\text{inst}} = d_{e(\text{inst})} - d_{i(\text{inst})}$$

Ainsi, la courbe de relation pression-surface interne a pu être générée automatiquement. Les cycles ont été définis manuellement en prenant les valeurs les plus basses de pression et de diamètre comme référence de début et de fin de cycle. Même si les enregistrements ont été réalisés de façon simultanée, la synchronisation des pieds d'onde de pression et de diamètre a été vérifiée visuellement pour chaque acquisition. Cependant, aucune resynchronisation des pieds d'ondes n'a été nécessaire.

Comme pour l'artère radiale, la viscosité pariétale a été évaluée par planimétrie avec le logiciel ImageJ®. Les valeurs de viscosité obtenues sont la moyenne de 3 cycles cardiaques par acquisition au minimum sur au moins 3 acquisitions.

Différentes représentations de la boucle d'hystérèse ont été évaluées : pression-diamètre externe, pression-diamètre interne, pression-surface interne. Dans la mesure où l'ensemble de ces représentations ont comme référence le diamètre externe mesuré par le système d'écho-tracking, leurs variations sont proches. Cependant, la valeur de viscosité absolue de la relation pression-diamètre externe comparée à celle avec le diamètre interne était systématiquement plus faible. Ceci est expliquée par la moindre distension du diamètre externe comparé à l'interne aboutissant à une boucle de moindre amplitude (Segers et al., 2004).

VI. Évaluation de la géométrie et de la mécanique artérielle carotidienne

L'évaluation de la géométrie a été réalisée avant les mesures bilatérales par écho-tracking haute résolution (WallTrackSystem, Esaote Pie Medical®). Les diamètres moyen, diastolique (d_{iD}) et systolique (d_{iS}) interne ont été calculés à partir des mesures instantanées. La distension (ou augmentation systolo-diastolique du diamètre, $Dist_i = d_{iS} - d_{iD}$) a été évaluée en mode de détection de mouvement pariétal (600 Hz)

Les paramètres mécaniques suivants ont été calculés comme décrit précédemment (Boutouyrie et al., 2004; Bussy et al., 2000; Maltete et al., 2010) :

- La contrainte pariétale : $\sigma = (PAM \cdot d_{i(\text{moyen})})/2h$
- L'index de compliance sectionnelle : $CC = \pi(d_{iS2} - d_{iD2})/4PPc$
- L'index de distensibilité sectionnelle : $DC = (d_{iS2} - d_{iD2})/(d_{iD2} \times PPc)$
- Le module incrémental élastique : $E_{inc} = \frac{3(1 + \frac{LCSA}{WCSA})}{D}$

où PPc la pression pulsée centrale mesurée en tonométrie carotidienne, $LCSA$ l'aire de la lumière artérielle = πr_{i2} et $WCSA$ l'aire de la section de la paroi artérielle = $\pi r_{e2} - \pi r_{i2}$.

VII. Évaluation de la morphologie de l'onde de pression et de la VOP par tonométrie d'aplanation (SphygmoCor®)

Les pressions centrales, la rigidité artérielle et la quantification des ondes de réflexion ont été évaluées de manière non-invasive par tonométrie d'aplanation (SphygmoCor®, AtCor Medical). Ces pressions centrales ont été mesurées directement au niveau carotidien droit. La calibration a été effectuée à partir de la PAD et de la PAM mesurées au niveau de l'artère radiale par tonométrie.

L'évaluation de la morphologie de l'onde de pression et des ondes de réflexion a été réalisée au niveau carotidien par le calcul :

- Du temps d'éjection (en ms et % de la période) allant de l'ouverture de la valve aortique T_0 à sa fermeture,
- Du temps T_1 aortique (en ms) correspondant à la durée entre le début de l'onde et le premier pic systolique (P_1 , pic primaire avant le retour de l'onde réfléchie),
- De la hauteur de P_1 (en mmHg) égale à $P_1 - PAD$,

- De l'augmentation carotidienne (AP, en mmHg) causée par le retour de l'onde de réflexion en systole,
- De l'index d'augmentation (AIx, en %), défini comme le rapport AP/PP. L'AIx75 est une valeur normalisée sur la FC de l'AIx,
- De l'index de Buckberg (en %), un index de viabilité sous-endocardique évaluant l'adaptation du cœur à la demande des organes périphériques, calculé par le ratio entre l'aire sous la courbe de pression en diastole (DPTI, en mmHg.s/min) et celle en systole (SPTI, en mmHg.s/min). DPTI, est un reflet de la pression et du temps dédiés à la perfusion coronaire.

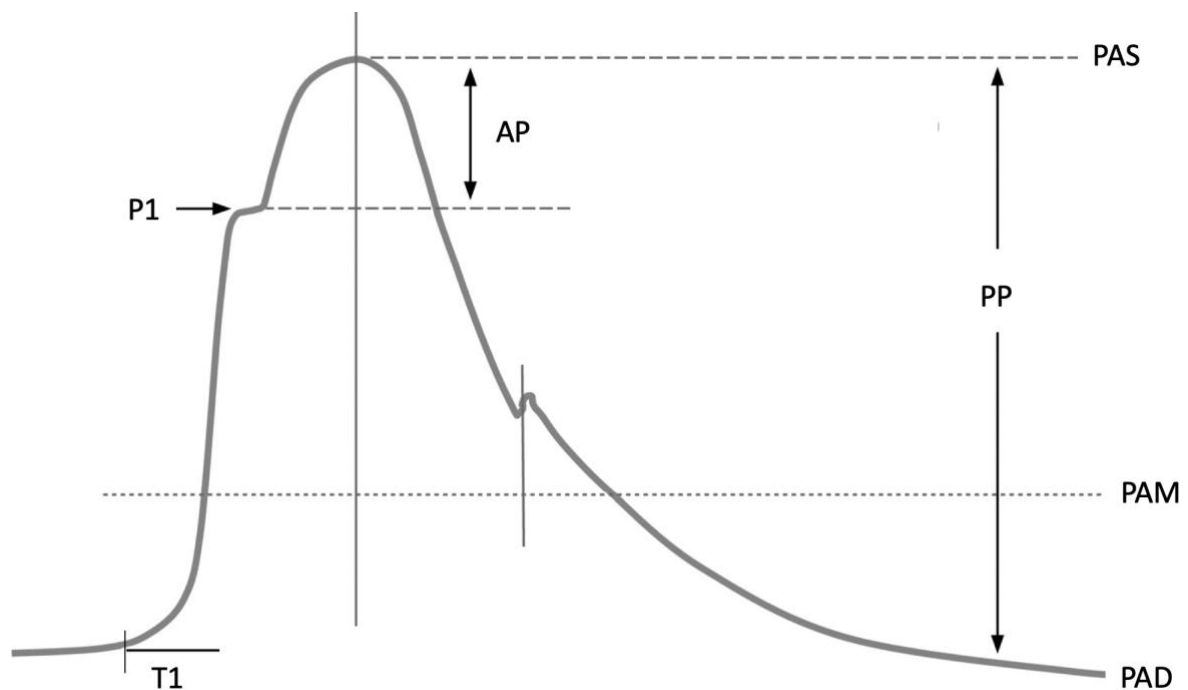


Figure 16. Evaluation de la morphologie de l'onde de pression
D'après (Laurent et al., 2006)

La rigidité aortique a été mesurée par la VOP le long de l'aorte thoraco-abdominale par un opérateur entraîné. La mesure a été réalisée par tonométrie d'aplanation par l'enregistrement séquentiel des ondes de pression au niveau de la carotide commune et de la fémorale commune

droite, secondairement synchronisées sur le signal électrocardiographique. La VOP a été calculée telle que :

$$VOP = \Delta L / \Delta t$$

où Δt est le décalage temporel mesuré entre les pieds d'ondes de pression carotidienne et fémorale et ΔL la distance entre la carotide et la fémorale. En accord avec les recommandations actuelles, la mesure de la distance entre la carotide et la fémorale a été réalisée avec une toise et corrigée par un facteur 0,8 (Laurent et al., 2006).

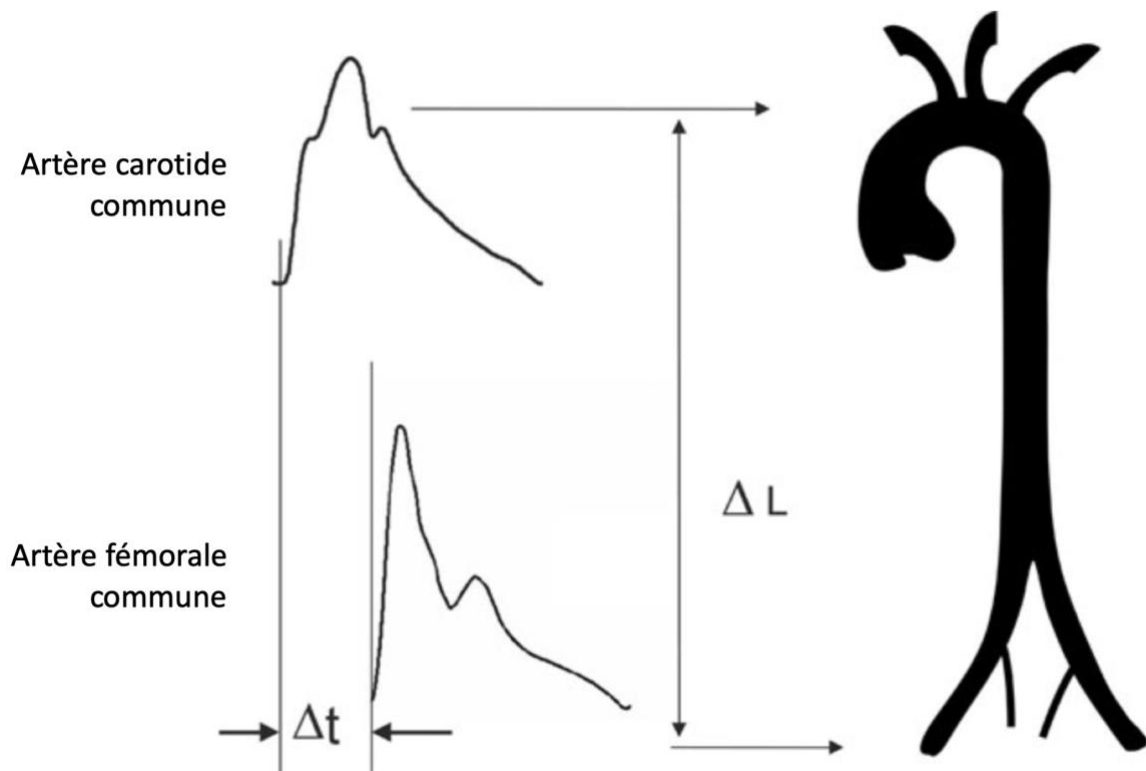


Figure. Évaluation de la VOP en tonométrie par la mesure du délai entre les pieds d'onde

D'après (Laurent et al., 2006)

VIII. Évaluation des vitesses carotidiennes et de la contrainte de cisaillement

Les vitesses carotidiennes systolique et moyenne ont été mesurées par Doppler (ArtLab system, Esaote Pie Medical®) à 1 cm en amont de la bifurcation de la carotide commune au centre du

vaisseau, en réduisant au maximum la fenêtre d'échantillonnage. Les contraintes de cisaillement systolique et moyenne ont été calculées à partir de la loi de Poiseuille et des valeurs individuelles de diamètre interne (d_i) obtenu en écho-tracking, de débit (Q) et de viscosité sanguine totale (μ), telle que $\tau = 4\mu Q/\pi r_i^3$ avec $r_i = d_i/2$.

IX. Évaluation des paramètres cardiaques et vasculaires par bioimpédancemétrie

Les volumes, le débit et la fonction cardiaque ont été mesurés de façon non invasive par bioimpédance thoracique au moyen de l'appareil PhysioFlow® PF-05 Lab1TM, logiciel version 2.7.0 (Manatec Biomedical®). La mesure est basée sur le temps de transit du signal d'impédance thoracique, entre la base du cou et la xiphœide, et l'analyse de sa dérivée au cours du temps. La synchronisation à l'ECG permet d'analyser les variations d'impédance observées comme correspondant aux variations de volume sanguin au cours du cycle de part et d'autre des électrodes (Bour, 2011; Bour and Kellett, 2008). Les paramètres suivants ont été ainsi évalués :

- Le débit cardiaque (Q_c , en L/min),
- Le volume d'éjection systolique (VES, en mL),
- La fraction d'éjection estimée (FE, en %),
- Le volume télé-diastolique (VTD, en mL),

Par ailleurs, les résistances périphériques totales (RPT) ont été calculées à partir du ratio entre la PAM et le Q_c . L'élastance télé-systolique du ventricule gauche, un marqueur de contractilité cardiaque, a été calculée par le ratio entre la pression télé-systolique obtenue en tonométrie carotidienne et le volume télé-systolique, lui-même calculé tel que $VTS = VTD - VES$ (Chemla et al., 1998; Reil et al., 2013).

RESULTATS

- **Étude n°1 : Rôle de l'endothélium vasculaire dans le contrôle de la viscosité pariétale artérielle chez l'Homme.**
- **Étude n°2 : L'adaptation endothéliale de la viscosité pariétale artérielle lors de l'augmentation du débit sanguin est altérée au cours de l'hypertension artérielle essentielle.**
- **Étude n°3 : Effet de la réduction pharmacologique de la fréquence cardiaque par l'ivabradine sur la viscosité pariétale de l'artère carotide.**

I. Étude n°1 : Rôle de l'endothélium vasculaire dans le contrôle de la viscosité pariétale artérielle chez l'Homme.

Frédéric Roca, Michèle Iacob, Isabelle Remy-Jouet, Jeremy Bellien, Robinson Joannidès.

Publié dans Hypertension. 2018;71. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.117.09870.

Résumé : La viscosité pariétale artérielle (VPA) est une cause majeure de dissipation d'énergie le long de l'arbre artériel. Ses déterminants restent controversés mais une régulation active par l'endothélium a été suggérée. Notre objectif a été d'évaluer, chez l'homme, le rôle physiologique du monoxyde d'azote endothélial (NO), des acides époxyeicosatriénoïques (EETs) et de la modulation du tonus musculaire lisse sur la régulation de la VPA.

Nous avons mesuré simultanément le diamètre artériel radial, l'épaisseur pariétale et la pression artérielle chez des volontaires sains avant et après l'injection locale de L-NMMA, un inhibiteur de la NO-synthase, de fluconazole, inhibant le cytochrome P450 qui synthétise les EETs, ou de TEA, inhibant les canaux potassiques calcium-dépendant qui constituent la cible cellulaire des EETs, soit seuls ou en combinaison. La VPA a été estimée par la viscosité relative, exprimée par le ratio entre l'aire de la boucle d'hystérèse de la relation pression-diamètre et l'aire sous la courbe de charge systolique. Le tonus musculaire a été évalué par les modifications de rigidité de la paroi artérielle et de la contrainte pariétale.

Ainsi, le L-NMMA diminue paradoxalement la viscosité relative (de $34,9 \pm 8,9\%$ à $28,9 \pm 8,6\%$). A l'inverse, la viscosité relative n'est pas modifiée par le fluconazole (de $33,5 \pm 15,5\%$ à $32,0 \pm 13,6\%$) mais est augmentée par le TEA (de $31,7 \pm 6,6\%$ à $35,7 \pm 8,0\%$). Cette augmentation a été plus marquée avec l'association L-NMMA-fluconazole (de $31,1 \pm 10,7\%$ à $43,3 \pm 13,2\%$) et L-NMMA-TEA (de $29,5 \pm 2,3\%$ à $41,5 \pm 11,1\%$) comparés aux inhibiteurs seuls. Le nitroprussiate de sodium, un donneur de NO non-endothélium dépendant, a diminué la VPA (de $35,4 \pm 2,9\%$ à $28,7 \pm 2,0\%$). Ces effets ont été associés à des modifications parallèles de tonus, mais d'amplitudes différentes malgré des variations comparables de viscosité, suggérant des mécanismes à la fois tonus-dépendants et indépendants.

En conclusion, cette étude démontre pour la première fois que les facteurs endothéliaux, NO et EETs, régulent la VPA chez l'homme, et suggère le rôle du tonus artériel dans cette régulation.

Evidence for a Role of Vascular Endothelium in the Control of Arterial Wall Viscosity in Humans

Frederic Roca, Michele Jacob, Isabelle Remy-Jouet, Jeremy Bellien, Robinson Joannides

Abstract—Arterial wall viscosity (AWV) is a major cause of energy dissipation along the arterial tree. Its determinants remain controversial but an active endothelial regulation has been suggested. Our objective was to assess in humans the physiological role of endothelium-derived nitric oxide (NO), epoxyeicosatrienoic acids and the effect of modulating smooth muscle tone in the regulation of AWV. We simultaneously measured radial artery diameter, wall thickness, and arterial pressure in healthy volunteers during the local infusion of inhibitors of NO-synthase (N^G -monomethyl-L-arginine), epoxyeicosatrienoic acids synthesis by cytochrome P450 (fluconazole), the epoxyeicosatrienoic acids cellular targets calcium-activated potassium channels (tetraethylammonium), alone and in combination. AWV was estimated from the relative viscosity expressed as the ratio of the area of the hysteresis loop of the pressure–diameter relationship to the area under the loading phase. Arterial tone was assessed by measuring change in wall stiffness and midwall stress. N^G -monomethyl-L-arginine paradoxically reduced relative viscosity ($34.9 \pm 8.9\%$ – $28.9 \pm 8.6\%$). Conversely, relative viscosity was not modified by fluconazole ($33.5 \pm 15.5\%$ – $32.0 \pm 13.6\%$) but increased by tetraethylammonium ($31.7 \pm 6.6\%$ – $35.7 \pm 8.0\%$). This increase was more marked with N^G -monomethyl-L-arginine+fluconazole ($31.1 \pm 10.7\%$ – $43.3 \pm 13.2\%$) and N^G -monomethyl-L-arginine+tetraethylammonium ($29.5 \pm 2.3\%$ – $41.5 \pm 11.1\%$) compared with inhibitors alone. Sodium nitroprusside decreased AWV ($35.4 \pm 2.9\%$ – $28.7 \pm 2.0\%$). These effects were associated with parallel change in tone but of different magnitude for similar variations in viscosity, suggesting tone-dependent and independent mechanisms. In conclusion, this is the first demonstration that the endothelial factors, NO and epoxyeicosatrienoic acids, regulate AWV in humans and support the role of arterial tone in this regulation.

Clinical Trial Registration—URL: <https://eudract.ema.europa.eu>. Unique identifier: RCB2007-A001-10-53.

(*Hypertension*. 2018;71:00-00. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.117.09870.) • [Online Data Supplement](#)

Key Words: arterial pressure ■ endothelium ■ endothelium-dependent relaxing factor ■ fluconazole ■ nitric oxide ■ viscosity

Arterial wall viscosity (AWV) is a physiological phenomenon that takes part in the control of cardiac energy dissipation along the arterial tree. The energy stored within the conduit artery wall during systole is proportional to the stress strain product and corresponds to the elastic extension work developed to support the cushioning function. This energy depends on the elastic properties of the arterial wall and the operating conditions that determine the rate and magnitude of pulse diameter.^{1–3} This stored elastic energy (W_E) is restored during the unloading phase as the arterial wall recoil and thus provides a continuous driving force to flow during diastole. However, in contrast to a pure elastic material that fully restores this energy leading to a stable pressure–diameter relationship during the loading and unloading phase, viscoelastic conduit arteries exhibit during the latter period a shifted relationship toward the diameter axis, the diameter being larger at any given stress.^{4,5} This shift determines through the cardiac cycle, the hysteresis

loop of the pressure–diameter relationship, whose area has an energy dimension and corresponds to the energy dissipated as heat during each cardiac beat.^{4,6} Thereby, AWV can be expressed as an absolute value of energy dissipated in viscous work (W_V) or as a percentage of the W_E within the arterial wall (W_V/W_E ; Figure 1).^{4–8} This critical relationship between stored and dissipated energies characterizes the damping properties of the arterial wall and could be maintained around an optimal value in chronic state.^{6,8,9}

Furthermore, most comparisons between in vivo and ex vivo experiments demonstrate a lower absolute and relative value of viscosity in vivo when evaluated in the same operational conditions. This suggests an excess of damping in vitro and in turn an active and highly regulated process to maintain a low rate of energy dissipation in vivo.^{5,10} However, the determinants of AWV remain controversial. Thus, AWV depends on the passive viscous properties of the wall components, and particularly the

Received June 15, 2017; first decision June 28, 2017; revision accepted October 16, 2017.

From the Department of Pharmacology, Rouen University Hospital, France (F.R., M.I., J.B., R.J.); Inserm U1096, Normandie Univ, UNIROUEN, France (F.R., M.I., I.R.-J., J.B., R.J.); Institute for Research and Innovation in Biomedicine, University of Rouen, France (F.R., I.R.-J., J.B., R.J.); and Clinical Investigation Center CIC-CRB 1404, Rouen University Hospital, France (F.R., J.B., R.J.).

The online-only Data Supplement is available with this article at <http://hyper.ahajournals.org/lookup/suppl/doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.117.09870/-/DC1>.

Correspondence to Robinson Joannides, Service de Pharmacologie, Inserm U1096, CHU de Rouen, 76031 Rouen Cedex, France. E-mail robinson.joannides@chu-rouen.fr

© 2017 American Heart Association, Inc.

Hypertension is available at <http://hyper.ahajournals.org>

DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.117.09870

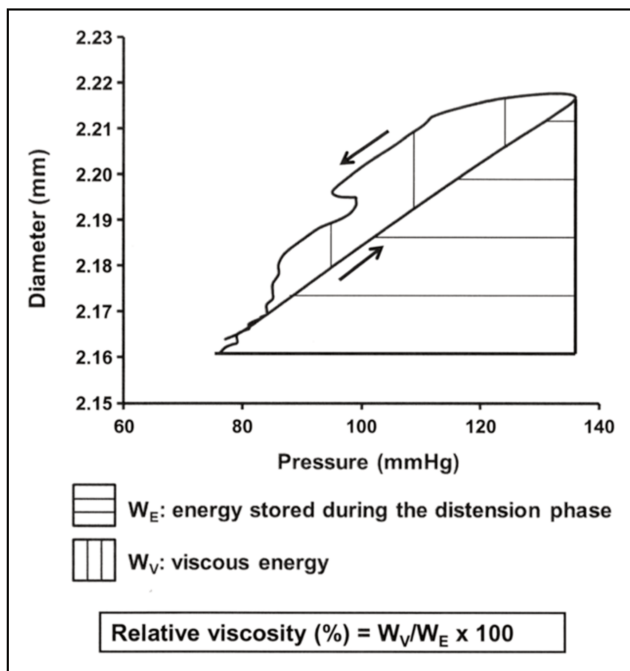


Figure 1. Typical individual hysteresis loop obtained during 1 cardiac cycle. W_v corresponds to the energy dissipated in viscous work by the arterial wall and is represented by the area of the hysteresis loop. W_E corresponds to the energy stored during the distension phase and is represented by the area under the hysteresis loop. The relative viscosity corresponds to the ratio between the dissipated energy and the stored energy (W_v/W_E).

importance of the vascular smooth muscle cells layer, explaining the elastic to muscular artery gradient of viscosity.¹¹ In addition, operating conditions that determine the magnitude of W_E also influence absolute and relative viscosity.^{1,9} Thus, in structural mechanics, W_v is a function of stress but in a larger extent than W_E explaining why the ratio W_v/W_E remains partly dependent on operating stress.^{9,12} Moreover, the role of vascular smooth muscle tone in the regulation of absolute viscosity has been suggested, an increase in tone leading to an increase in the hysteresis loop area.^{13–15} Nevertheless, this role is less obvious when W_E or operating conditions are considered, suggesting that tone may rather act on these parameters than directly on viscosity.^{1,8,16} Furthermore, 1 elegant animal study suggested that the vascular endothelium is involved in the regulation of AWW, by showing a marked increase in aortic relative viscosity after de-endothelialization *in vitro* and *in vivo*.⁵ In humans, evidence are less conclusive, because absolute viscosity of elastic arteries is increased in some conditions associated with endothelial dysfunction, like aging and hypertension, but not in others, like type 2 diabetes mellitus.^{15,17–19} In addition, during hypertension this increase is not associated with an increase in relative viscosity, rather suggesting an adaptive process to the increase in pulse pressure and in W_E than a primary alteration of the viscous properties.⁸ To date, despite evidence demonstrating that nitric oxide (NO) and epoxyeicosatrienoic acids (EETs) regulate smooth muscle tone, no study has directly evaluated *in vivo* in humans the role of the vascular endothelial factors and smooth muscle tone in the control of AWW.^{20,21} NO and CYP450-derived EETs, which are endothelium-derived relaxing factors are likely candidates to be involved in the endothelial

control of AWW.²² The objective of the present study was thus, to assess the physiological role of endothelium-derived NO and EETs and the endothelium-independent effect of modulating smooth muscle tone in the regulation of AWW while considering the operating conditions.

Methods

Subjects

The study was performed in a total of 16 healthy volunteers. All subjects were nonsmokers and did not receive any medication at the time of the study. They were deemed healthy based on a complete medical examination and routine laboratory tests (Table S1 in the [online-only Data Supplement](#)). The forearm volume of each volunteer was measured by using the water displacement method to adjust the doses of the pharmacological agents to be infused. The study was approved by the local Ethics Committee (Committee for the Protection of Persons of Nord-Ouest I), and all participants gave written informed consent. The study was conducted according with the Principles of Good Clinical Practice and the Declaration of Helsinki and was registered at <https://eudract.ema.europa.eu> under the unique identifier RCB2007-A001-10-53.

General Procedure

Measurements were performed in the morning while subjects were in a supine position, in a quiet air-conditioned room, maintained at a constant temperature (22°C to 24°C). Radial internal diameter, wall thickness, and digital arterial pressure were continuously measured using a high-precision echotracking device on the nondominant arm (NIUS 02, Asulab) coupled to a finger photoplethysmograph (Finapres System, Ohmeda) as described previously.^{23–27} Briefly, these devices allow the measurement of radial artery internal diameter with a resolution on the diameter evolution of <1 μm and of blood pressure with a precision of 2 mmHg. Pressure measurements were performed similarly before and after drug infusion in accordance with previous results showing that the finger pressure waveform and its relationship with the radial pressure waveform are poorly affected by local changes in tone.^{28–31}

Measurement of AWW

AWV was estimated from the pressure–diameter relationship as described previously.^{3,5,16,32} W_E was assessed for each cardiac cycle by integrating the pressure–diameter area during the loading phase, that is, from diastolic to systolic pressure, and is thus graphically, bounded by the area under the pressure–diameter relationship, the pulse pressure, and the pulse diameter. However, as stressed previously, W_E is not fully restored during the unloading phase. The area of the hysteresis loop of the pressure–diameter relationship obtained during the loading and unloading phases, which has similarly a dimension of energy, corresponds in fact to the energy dissipated in W_v by the arterial wall during 1 cardiac cycle (Figure 1). The loop area was measured by image analysis software (ImageJ). Energies are expressed in joules per square meters during 1 cycle. AWW is expressed either in absolute value of W_v or as a percentage of the energy stored during the loading phase (relative viscosity = $\frac{W_v}{W_E} \times 100$).^{4–6} The practical precision of this method is given by the precision of pressure and diameter measurements (2 mmHg and 1 μm, respectively) and can be estimated as $2.66 \times 10^{-4} \text{ J} \cdot \text{m}^{-2}$. The precision of the image analyzer is 1 pixel square that can be estimated as $1.62 \times 10^{-6} \text{ J} \cdot \text{m}^{-2}$ and thus can be considered negligible. The calculation of hysteresis was made after the temporal synchronization of the feet of pressure and diameter waves. These waveforms were synchronized manually after defining the feet of the wave as the minimal values of pressure and diameter just before the ascending phase of each cycle. Feet synchronization resulted in the graphical superposition of the 2 upshot phases (Figure S1). Data presented for AWW was the average of at least 3 cardiac cycles.

Mechanics of the Radial Artery

The cross-sectional compliance (C), the incremental elastic modulus (Ei), and the midwall stress (σ) were evaluated from the values of arterial pressure (P), internal diameter (d), and wall thickness (h) as described previously.^{24,33} Detailed Materials and Methods are available in the [online-only Data Supplement](#).

Role of NO and EETs and of Endothelium-Independent Smooth Muscle Tone Relaxation in the Regulation of AWW

Local infusion of NO-synthase inhibitor, N^G-monomethyl-L-arginine (L-NMMA), a potent inhibitor of EET-synthesizing enzymes cytochrome P450 epoxygenases, fluconazole, a nonspecific blocker of vascular K_{Ca} channels which are the cellular targets of EETs mediating their hyperpolarizing and relaxing effect, tetraethylammonium (TEA) chloride, the association of L-NMMA with fluconazole or the association of L-NMMA with TEA, and an exogenous donor of NO, sodium nitroprusside (SNP), were performed in nondominant brachial artery as described previously.^{33,34} Detailed Materials and Methods are available in the [online-only Data Supplement](#).

Statistical Analysis

Statistics were performed using the SYSTAT package (SYSTAT 8.0; SPSS). Qualitative variables are presented as absolute and relative frequencies. Continuous variables are presented in the text as median (interquartile range, 25–75) or mean \pm SD according to normality and mean \pm SEM in figures. Homogeneity of the measured parameters at baseline before the different administration sequences was assessed using 2 methods, an ANCOVA and a mixed model with the subject as cofactor. The effects of each pharmacological agent on measured parameters were assessed using paired *t* test or Wilcoxon matched-pairs signed-rank test as appropriate. The effect of combination of inhibitors versus inhibitors alone on the variation of relative viscosity was assessed by using a mixed model analyze with the subject as cofactor followed by Bonferroni post-test. Variations of W_E and W_V were expressed in percent change from baseline and the comparison of the effect of each inhibitor on these variations was assessed using paired *t* test. A value of *P*<0.05 was considered statistically significant.

Results

Effect of Fluconazole and L-NMMA on Plasma EETs and Nitrite Levels

Fluconazole decreased local plasma EET level (from 12.9 \pm 3.1 to 11.6 \pm 3.7 ng/mL, *P*<0.05) and L-NMMA decreased plasma nitrite level (from 185 \pm 37 to 128 \pm 19 nmol/mL, *P*<0.05).

Role of NO and EETs in the Regulation of Radial Artery Geometry and Mechanics

At baseline, there was no significant difference between groups for blood pressures, heart rate, radial artery geometry and mechanics (Tables 1 and 2). None of the inhibitors affected blood pressures or heart rate (Table 1). Radial artery diameter was not affected by L-NMMA (from 2.63 \pm 0.33 to 2.58 \pm 0.34 mm) or fluconazole (from 2.59 \pm 0.39 to 2.58 \pm 0.39 mm), whereas it was reduced by L-NMMA+fluconazole (from 2.61 \pm 0.36 to 2.52 \pm 0.40 mm, *P*<0.01), TEA (from 2.68 \pm 0.19 to 2.50 \pm 0.21 mm, *P*<0.001) and, to a larger extent, by L-NMMA+TEA (from 2.71 \pm 0.28 to 2.41 \pm 0.26 mm, *P*<0.001). The radius:wall thickness ratio was similarly affected by the different inhibitors (Table 2). Consequently, midwall stress was not affected by L-NMMA or fluconazole, whereas it was reduced by L-NMMA+fluconazole, TEA and, to a larger extent, by L-NMMA+TEA (Table 2).

As regards the arterial wall stiffness, L-NMMA reduced the incremental elastic modulus without affecting midwall stress demonstrating a decrease in tone and thus an isometric relaxation of the vascular smooth muscle cells during the decrease in NO bioavailability (Table 2). Simultaneously, the compliance, which is proportional to the diameter:modulus ratio, did not significantly increase because of the slight decrease in diameter. Fluconazole did not modify compliance, incremental elastic modulus and midwall stress suggesting no role for EETs in the baseline regulation of these parameters in our population. The combination of L-NMMA and fluconazole did not modify the incremental elastic modulus despite decreasing the midwall stress, demonstrating an increase in the arterial wall tone related to smooth muscle cells contraction during combined inhibition of NO and EETs synthesis. This result suggests a role for EETs in the basal regulation of arterial wall tone during reduced NO bioavailability. In the same way, TEA did not modify the incremental elastic modulus despite decreasing the midwall stress, demonstrating an increase in the arterial wall tone related to smooth muscle cells contraction during vascular K_{Ca} channels blockade. Moreover, despite similar decreases in midwall stress, compliance was not modified during combined inhibition of NO and EETs

Table 1. Systemic Hemodynamics Before and After L-NMMA, Fluconazole, TEA, L-NMMA Combined With Fluconazole or TEA, and SNP

Parameters	Time	L-NMMA (n=10)	Fluconazole (n=9)	L-NMMA+ Fluconazole (n=11)	TEA (n=7)	L-NMMA+TEA (n=7)	SNP (n=7)
SBP, mm Hg	Before	132 \pm 17	126 \pm 21	121 \pm 18	121 \pm 12	118 \pm 15	122 \pm 9
	After	133 \pm 19	127 \pm 19	121 \pm 19	125 \pm 11	121 \pm 14	121 \pm 14
DBP, mm Hg	Before	77 \pm 12	79 \pm 11	77 \pm 16	77 \pm 11	71 \pm 13	76 \pm 10
	After	79 \pm 12	83 \pm 11	78 \pm 13	76 \pm 9	73 \pm 12	77 \pm 10
MBP, mm Hg	Before	90 \pm 13	95 \pm 14	91 \pm 17	90 \pm 11	85 \pm 14	93 \pm 9
	After	92 \pm 14	98 \pm 14	92 \pm 13	90 \pm 9	87 \pm 12	94 \pm 10
PP, mm Hg	Before	55 \pm 13	47 \pm 15	43 \pm 8	44 \pm 10	46 \pm 9	46 \pm 9
	After	54 \pm 13	44 \pm 14	44 \pm 14	49 \pm 7	48 \pm 3	44 \pm 12
HR, bpm	Before	60 \pm 11	57 \pm 7	54 \pm 6	58 \pm 4	59 \pm 6	58 \pm 6
	After	58 \pm 10	57 \pm 6	57 \pm 8	60 \pm 7	64 \pm 8	59 \pm 5

Values are mean \pm SD. bpm indicates beat per minute; DBP, diastolic blood pressure; HR, heart rate; L-NMMA, N^G-monomethyl-L-arginine; MBP, mean blood pressure; PP, pulse pressure; SBP, systolic blood pressure; SNP, sodium nitroprusside; and TEA, tetraethylammonium.

Table 2. Geometry and Mechanics of the Radial Artery Before and After L-NMMA, Fluconazole, TEA, and L-NMMA Combined With Fluconazole or TEA

Arterial Parameters	Time	L-NMMA	Fluconazole	TEA	L-NMMA+ Fluconazole	L-NMMA+TEA	SNP
Radius:wall thickness ratio	Before	4.12±0.45	4.26±0.67	3.99±0.34	4.56±1.55	3.98±0.33	3.73±0.09
	After	3.97±0.42	4.27±0.69	3.52±0.29†	4.11±0.97*	3.19±0.30‡	5.37±0.68*
Midwall stress (10 ¹ kPa)	Before	5.5±1.4	6.0±1.6	5.2±0.6	5.8±1.8	4.8±0.9	5.0±0.4
	After	5.4±1.3	6.0±1.7	4.6±0.5*	5.3±1.3*	3.9±0.6†	6.9±0.5‡
Compliance (10 ⁻⁸ m ² ·kPa ⁻¹)	Before	3.290±1.777	3.961±2.402	5.173±2.232	3.864±2.378	5.132±2.184	2.812±1.121
	After	3.502±1.647	3.900±2.336	4.064±1.743*	3.868±2.624	2.917±1.454‡	7.619±2.681*
Modulus (10 ³ kPa)	Before	1.69±0.95	1.40±0.71	1.21±0.64	1.71±0.70	0.82 (0.73–1.05)	1.80±0.65
	After	1.28±0.55*	1.58±1.06	1.19±0.53	1.46±0.73	1.13 (0.84–1.29)*	1.34±0.61

Values are mean±SD or median (IQR, 25–75). L-NMMA indicates N^G-monomethyl-L-arginine; SNP, sodium nitroprusside; and TEA, tetraethylammonium.

*P<0.05;

†P<0.01;

‡P<0.001 vs baseline.

synthesis, whereas it decreased during vascular K_{Ca} channels blockade suggesting a larger increase in tone with TEA.

The combination of L-NMMA and TEA increased the incremental elastic modulus and dramatically decreased compliance despite decreasing the midwall stress, demonstrating the highest increase in arterial wall stiffness and tone related to smooth muscle cells contraction during NO-synthase inhibition and vascular K_{Ca} channels blockade (Table 2).

Role of NO and EETs in the Regulation of AWW

At baseline, there was no significant difference between groups for W_v, W_E, and W_v/W_E (Table S2). L-NMMA slightly reduced the relative viscosity (W_v/W_E) (Figure 2). This effect was related to a decrease in W_v as compared with W_E (Figure 3), the latter being not modified in absence of significant change in pulse pressure (Table 1) and pulse diameter (from 0.048±0.021–0.048±0.020 mm) after L-NMMA. Relative

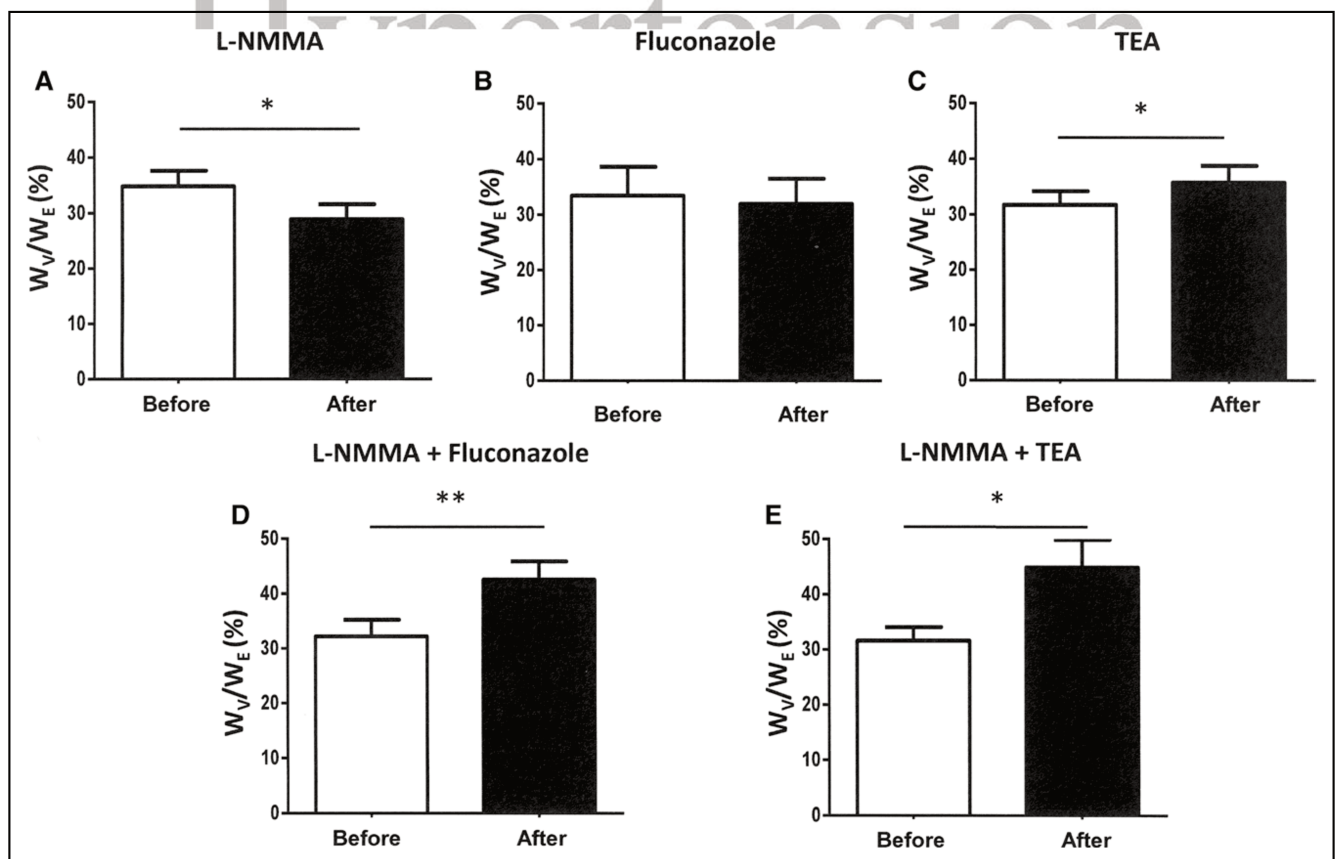


Figure 2. Bar graphs show the relative viscosity (W_v/W_E) before and after N^G-monomethyl-L-arginine (L-NMMA; **A**), fluconazole (**B**), tetraethylammonium (TEA; **C**), L-NMMA+fluconazole (**D**) and L-NMMA+TEA (**E**). *P<0.05; **P<0.01. W_E indicates energy stored during the distension phase; and W_v, viscous energy.

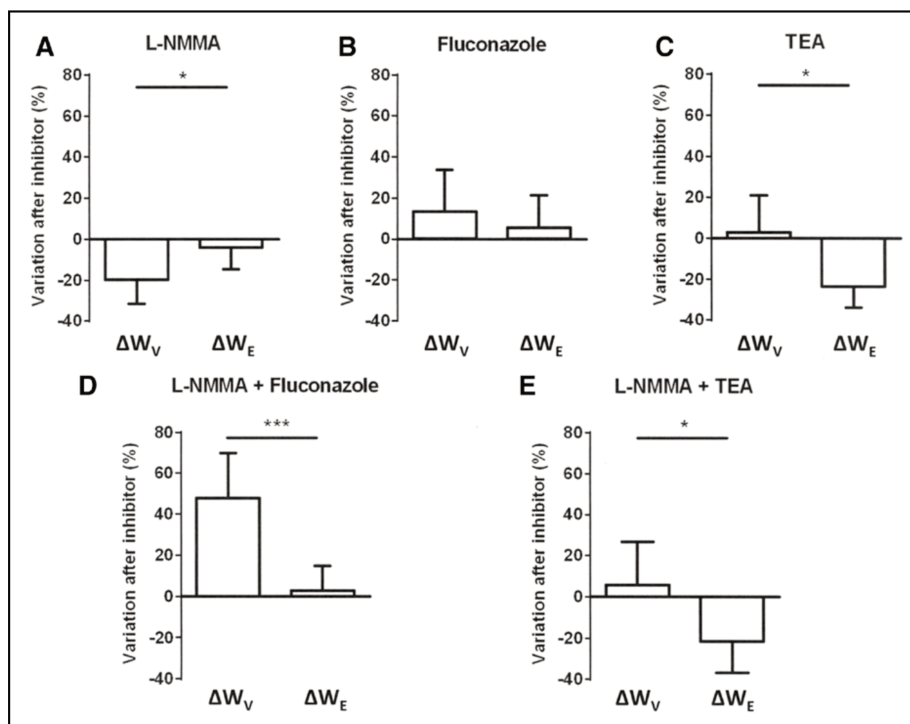


Figure 3. Bar graphs show the percent change in W_V and W_E after N^G -monomethyl-L-arginine (L-NMMA; **A**), fluconazole (**B**), tetraethylammonium (TEA; **C**), L-NMMA+fluconazole (**D**) and L-NMMA+TEA (**E**). * $P < 0.05$; *** $P < 0.001$. W_E indicates energy stored during the distension phase; and W_V , viscous energy.

viscosity (Figure 2), W_V and W_E (Figure 3) and pulse diameter (from 0.055 ± 0.032 – 0.057 ± 0.039 mm) were not modified after fluconazole. The combination of L-NMMA and fluconazole dramatically increased the relative viscosity ($P < 0.001$ versus L-NMMA alone; $P < 0.01$ versus fluconazole alone; Figure 2). This effect was related to an increase in W_V as compared with W_E (Figure 3), in absence of change in pulse pressure (Table 1) and pulse diameter (from 0.051 ± 0.033 – 0.048 ± 0.030 mm). After TEA, the relative viscosity increased (Figure 2) because of a significant decrease in W_E as compared with W_V (Figure 3). This decrease in W_E was mainly explained, in absence of change in pulse pressure, by the reduction of the pulse diameter (from 0.061 ± 0.028 – 0.051 ± 0.029 mm, $P < 0.05$) related to the major increase in arterial wall smooth muscle cells contraction after TEA infusion. In the same way, the combination of L-NMMA and TEA dramatically increased the relative viscosity ($P < 0.001$ versus L-NMMA alone; $P < 0.05$ versus TEA alone; Figure 2), due to a decrease in W_E as compared with W_V (Figure 3). This decrease in W_E was also associated with a reduction in the pulse diameter (from 0.069 ± 0.031 – 0.047 ± 0.020 mm, $P < 0.05$).

Role of Endothelium-Independent Decrease in Smooth Muscle Tone in the Control of AWW

SNP infusion did not modify blood pressures or heart rate (Table 1) but increased radial artery diameter (from 2.55 ± 0.36 – 3.08 ± 0.45 mm, $P < 0.001$). Consequently, SNP dramatically increased the radius:wall thickness ratio and midwall stress (Table 2). Despite this large increase in mid-wall stress, compliance dramatically increased and incremental elastic modulus was not modified, demonstrating a decrease in the arterial tone related to NO-dependent smooth muscle cells relaxation. Simultaneously, SNP decreased

the relative viscosity because of a dramatic increase in W_E as compared with W_V (Figure 4). This increase in W_E was associated with an increase in the pulse diameter (from 0.037 ± 0.020 – 0.077 ± 0.034 mm, $P < 0.05$).

Discussion

This study demonstrates for the first time the role of the endothelium in the control of the viscous behavior of conduit arteries in vivo in humans through an interaction between NO and EETs. In addition, changes in relative viscosity (W_V/W_E) after endothelial factors inhibition or SNP are observed with parallel changes in the smooth muscle tone of the arterial wall, mainly supporting a tone-dependent mechanism. However, similar variations in relative viscosity are observed with

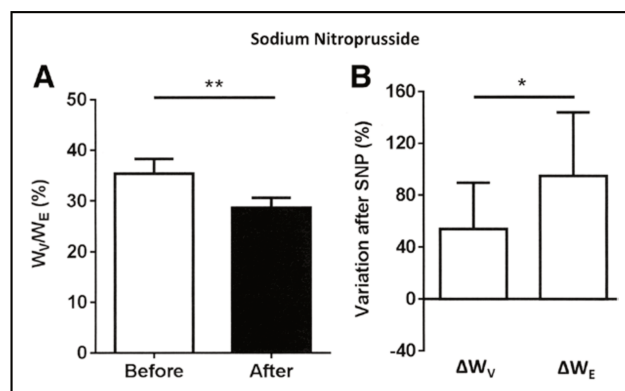


Figure 4. Bar graphs show **(A)** the relative viscosity (W_V/W_E) before and after sodium nitroprusside (SNP) and **(B)** the percent change in W_V and W_E after SNP; * $P < 0.05$; ΔW_V vs ΔW_E ; ** $P < 0.01$ vs baseline. W_E indicates energy stored during the distension phase; and W_V , viscous energy.

different magnitude of change in tone, suggesting associated tone-independent mechanisms.

The present study was performed in healthy subjects at the level of the radial artery to assess *in vivo* the physiological role of the vascular endothelium in the regulation of the viscous behavior of peripheral conduit arteries. We chose the radial artery, because peripheral muscular conduit arteries exhibit mechanical properties characterized by an important viscous component and a tone-dependent regulation.^{11,21} Viscous behavior of the radial artery was evaluated by measuring the hysteresis loop of the pressure–diameter relationship obtained using validated high-resolution echotracking method.^{1,5,24,33,35,36} This approach allows to focus on the thermodynamic aspect of the arterial mechanics and thus to analyze the viscosity phenomenon as the source of energy dissipated by the arterial wall considering the energy delivered during the cardiac cycle.^{3–5} Pressure and diameter waves were thus precisely synchronized on the foot of each wave to avoid pressure and distension recording positions mismatch known to lead to deformation of the loop and biased evaluation of the viscoelastic behavior.³⁷ Thus, this synchronization results in the alignment of the upshot of the diameter and pressure pulses as reported previously.³⁸

Moreover, in addition to the measurement of the area of the hysteresis loop corresponding to the W_v dissipated during the cardiac cycle, we measured the W_e within the arterial wall.^{5,16} This makes possible to express arterial viscous behavior as the absolute value of W_v and as relative to one of its main determinant W_e . Indeed, in physiological conditions, a close relationship exists between the energy dissipated and the energy stored by the arterial wall, graphically illustrated by the fact that W_v and W_e area are both bounded by the pressure–diameter curve of the loading phase (Figure 1).^{4,5,8} This approach enables to consider the influence of W_e on W_v .^{1,5,7,19,39} In fact, previous studies reported increase in W_v without modification in the ratio because of parallel change in W_v and W_e rather suggesting modifications in W_e and its determinants than in viscous properties of the arterial wall themselves.^{7,8}

Furthermore, we used the local inhibition of NO and EETs to evaluate the role of the endothelium in the regulation of viscous behavior of the radial artery. Thus, it was possible to evaluate the effect of endothelial factors on absolute and relative viscosity in absence of systemic effect, particularly on pressure and heart rate. Moreover, this provides the opportunity to consider simultaneous changes in arterial stiffness and midwall stress related to change in arterial tone.^{21,34}

In this context, we observed that L-NMMA slightly reduced absolute and relative viscosity. This was associated with a decrease in arterial tone because of an isometric smooth muscle cell relaxation related to the compensatory release of EETs during the loss of NO synthesis that slightly overpasses the basal effect of NO.^{21,33} Accordingly, although isolated inhibition of EETs synthesis with fluconazole had no effect on radial artery diameter, wall thickness, midwall stress, compliance, incremental elastic modulus, or viscosity, combined inhibition of NO and EETs synthesis induced a parallel increase in arterial tone and relative viscosity of the radial artery. This suggests that EETs are not involved in the basal regulation of these parameters as demonstrated previously for radial artery diameter in a similar young population.³⁴ However, this also

confirms the compensatory release of EETs in absence of NO and demonstrates the synergic contribution of NO and EETs in the regulation of AWW. Moreover, parallel effects on smooth muscle tone, W_v and relative viscosity suggest that a tone-dependent mechanism is involved in this regulation.¹ Thus, the relation between smooth muscle tone and AWW, has been stressed previously in isolated aortic strips submitted to cyclic stretch, by demonstrating a parallel increase in viscosity and basal tone on graded contraction induced by histamine.⁴⁰

In addition, TEA induced an increase in arterial tone and a significant increase in relative viscosity demonstrating that vascular K_{Ca} channels are involved in the regulation of AWW.³³ These significant effects of K_{Ca} channels inhibition by TEA suggest, in absence of change after fluconazole alone, that CYP450-independent hyperpolarizing mechanisms may be involved in the control of the arterial viscoelastic behavior, as suggested previously in animals and humans.^{34,41–44} Moreover, the combination of L-NMMA and TEA induced a dramatic increase in arterial stiffness and in the relative viscosity, demonstrating a synergistic effect of the inhibition of NO synthesis and K_{Ca} channels on these parameters. In these 2 situations, the increase in relative viscosity was related to a larger decrease in W_e than W_v . This result supports a tone-dependent regulation of AWW. Thus, after TEA or the combination of L-NMMA and TEA, the expected decrease in W_v because of the change in operating conditions, that is, the decrease in midwall stress, was counteracted by the increase in smooth muscle tone.¹

As regards the effect of SNP, exogenous NO reduced arterial stiffness and tone confirming the proper effect of NO on arterial mechanics.²¹ In addition, SNP reduced relative viscosity as described previously in animal models *in vivo*.¹⁶ As stressed for TEA and the combination of L-NMMA and TEA but in an opposite way, the larger increase in W_e than W_v after SNP supports a tone-dependent regulation of AWW. In fact, the expected increase of W_v after the dramatic increase in midwall stress and W_e is balanced by the effect of the decrease in tone on W_v induced by SNP.

At first sight, our results are not consistent with conclusions of 2 previous *in vitro* studies, showing no change in AWW in experimental conditions associated with change in tone.^{1,16} However, the first study reported no change in AWW with tone at the highest level of stress while demonstrating its increase with tone at the lowest and physiological level of midwall stress.¹ In addition, the second one reported a similar relative viscosity in situation of increase or decrease in tone induced by phenylephrine and SNP respectively.¹⁶ However, the proper effect of midwall stress that usually decreases with phenylephrine and increases with SNP may have counteract the tone effect and explain these results. Thus, W_v/W_e takes into account W_e and its determinants, but indexing W_v by W_e does not fully suppress the impact of operating conditions on relative viscosity, particularly pulse pressure and heart rate, as shown previously, but also midwall stress.^{9,16}

Furthermore, whether changes in distal resistance arteries tone induced by forearm drugs infusions may have indirectly influenced radial artery stiffness and viscosity by modifying local hemodynamics seems unlikely for TEA alone and both combinations. In fact, we demonstrated in similar experimental conditions that radial artery mean wall shear stress was

not modified in these 2 conditions.³⁴ Conversely, in the same study, L-NMMA decreased and fluconazole increased wall shear stress when infused alone.³⁴ Accordingly, L-NMMA may thus have increased arterial stiffness and AWV but the opposite effect was observed, suggesting a predominant effect of NO synthesis inhibition compared with the local hemodynamics effect. About fluconazole, arterial mechanics, and AWV were not modified in the present study and we cannot exclude that a small increase in radial viscosity related to EETs synthesis inhibition may have been counteracted by the increase in shear stress.

Finally, 2 inhibition sequences, that is, TEA and the combination of L-NMMA and fluconazole, suggest that additional mechanisms may be involved in the regulation of AWV by the endothelium. Indeed, despite a lower increase in tone with L-NMMA and fluconazole than with TEA, we observed similar increase in relative viscosity and decrease in radius:wall thickness ratio and midwall stress for these 2 conditions. This suggests for L-NMMA+fluconazole that a tone-independent mechanism contributes together with the effect of the low increase in tone to reach the same level of AWV than that obtained with TEA. This suggests that AWV could also be regulated by tone-independent mechanisms. Because the hydration state of tissues affects their viscoelastic properties, the endothelial regulation of vascular permeability may be a promising hypothesis to explain this tone-independent regulation of AWV.^{45–47}

In conclusion, these results demonstrate for the first time in vivo that the endothelial factors, NO, and EETs, contribute to the regulation of AWV of peripheral conduit arteries in humans and suggest tone-dependent and tone-independent mechanisms of regulation.

Perspectives

Our study demonstrates the role of endothelium in the regulation of AWV, an old concept poorly investigated in humans for methodological limitations, and clarifies the link between arterial viscous behavior, arterial tone, and operational conditions. Furthermore, our results suggest both tone-dependent and tone-independent mechanisms of endothelium regulation of AWV that need to be further explored.

Determination of AWV constitutes a new way to investigate the consequences of endothelial dysfunction on the cardiovascular system. Pathological increase in AWV may result in an excess of cardiac energy dissipation along the arterial tree promoting cardiovascular uncoupling. In addition, local excessive energy dissipation could be deleterious by accelerating degenerative processes within the arterial wall. At the opposite, the impact of an insufficient increase in energy dissipation relative to the energy stored remains to be investigated because this may lead to an excessive energy transmission to the periphery thus, promoting organ damage. Alteration of the regulation of AWV could be involved in the early state of cardiovascular diseases therefore representing a new promising pharmacological target.

Acknowledgments

We thank Daniele Lucas, Yvonne Dreano (Department of Biochemistry, INSERM U613, ECLA, Brest University Hospital, Brest, France), and Laurence Gutierrez (Clinical Investigation Center

CIC-CRB 1404, Rouen University Hospital, Rouen, Normandie, France) for their technical assistance.

Sources of Funding

This study was supported by grants from the Société Française d'Hypertension Artérielle and from the Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale-Direction de l'Hospitalisation et de l'Organisation des Soins (Inserm-DHOS) for translational research.

Disclosures

None.

References

1. Busse R, Bauer RD, Sattler T, Schabert A. Dependence of elastic and viscous properties of elastic arteries on circumferential wall stress at two different smooth muscle tones. *Pflugers Arch*. 1981;390:113–119.
2. Dobrin PB. Mechanical properties of arteries. *Physiol Rev*. 1978;58:397–460.
3. Bertram CD. Energy dissipation and pulse wave attenuation in the canine carotid artery. *J Biomech*. 1980;13:1061–1073.
4. Alexander RM. *Animal Mechanics*. 2nd ed. Oxford, UK: Blackwell Scientific; 1983.
5. Boutouyrie P, Bézine Y, Lacolley P, Challande P, Chamot-Clerc P, Benetos A, de la Faverie JF, Safar M, Laurent S. In vivo/in vitro comparison of rat abdominal aorta wall viscosity. Influence of endothelial function. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1997;17:1346–1355.
6. Ker RF. Dynamic tensile properties of the plantaris tendon of sheep (Ovis aries). *J Exp Biol*. 1981;93:283–302.
7. Armentano R, Megnien JL, Simon A, Bellenfant F, Barra J, Levenson J. Effects of hypertension on viscoelasticity of carotid and femoral arteries in humans. *Hypertension*. 1995;26:48–54.
8. Armentano RL, Barra JG, Santana DB, Pessana FM, Graf S, Craiem D, Brandani LM, Baglivo HP, Sanchez RA. Smart damping modulation of carotid wall energetics in human hypertension: effects of angiotensin-converting enzyme inhibition. *Hypertension*. 2006;47:384–390. doi: 10.1161/01.HYP.0000205915.15940.15.
9. Orban F. Damping of materials and members in structures. *J Phys: Conf Ser*. 2011;268:012022.
10. Valdez-Jasso D, Bia D, Zócalo Y, Armentano RL, Haider MA, Olufsen MS. Linear and nonlinear viscoelastic modeling of aorta and carotid pressure-area dynamics under in vivo and ex vivo conditions. *Ann Biomed Eng*. 2011;39:1438–1456. doi: 10.1007/s10439-010-0236-7.
11. Bergel DH. The dynamic elastic properties of the arterial wall. *J Physiol*. 1961;156:458–469.
12. Lazan BJ. *Damping of Materials and Members in Structural Mechanics*. Oxford, England: Pergamon Press; 1968: 1–317.
13. Dobrin PB, Rovick AA. Influence of vascular smooth muscle on contractile mechanics and elasticity of arteries. *Am J Physiol*. 1969;217:1644–1651.
14. Bauer RD, Pasch T. The quasistatic and dynamic circumferential elastic modulus of the rat tail artery studied at various wall stresses and tones of the vascular smooth muscle. *Pflugers Arch*. 1971;330:335–346.
15. Armentano RL, Barra JG, Levenson J, Simon A, Pichel RH. Arterial wall mechanics in conscious dogs. Assessment of viscous, inertial, and elastic moduli to characterize aortic wall behavior. *Circ Res*. 1995;76:468–478.
16. Boutouyrie P, Boumaza S, Challande P, Lacolley P, Laurent S. Smooth muscle tone and arterial wall viscosity: an in vivo/in vitro study. *Hypertension*. 1998;32:360–364.
17. Toutouzas K, Stefanadis C, Tsiamis E, Vlachopoulos C, Tousoulis D, Tsioufis C, Toutouzas P. Aortic pressure-diameter relation in patients with non-insulin dependent diabetes mellitus: new insights. *Diabetologia*. 2000;43:1070–1075. doi: 10.1007/s001250051492.
18. Kawano H, Yamamoto K, Gando Y, Tanimoto M, Murakami H, Ohmori Y, Sanada K, Tabata I, Higuchi M, Miyachi M. Lack of age-related increase in carotid artery wall viscosity in cardiorespiratory fit men. *J Hypertens*. 2013;31:2370–2379. doi: 10.1097/HJH.0b013e328364cbb4.
19. Stefanadis C, Dernellis J, Vlachopoulos C, Tsioufis C, Tsiamis E, Toutouzas K, Pitsavos C, Toutouzas P. Aortic function in arterial hypertension determined by pressure-diameter relation: effects of diltiazem. *Circulation*. 1997;96:1853–1858.
20. Hercule HC, Schunck WH, Gross V, Seringer J, Leung FP, Weldon SM, da Costa Goncalves ACh, Huang Y, Luft FC, Gollasch M. Interaction between P450 eicosanoids and nitric oxide in the control of arterial tone in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2009;29:54–60. doi: 10.1161/ATVBAHA.108.171298.

21. Joannides R, Richard V, Haefeli WE, Benoist A, Linder L, Lüscher TF, Thuillez C. Role of nitric oxide in the regulation of the mechanical properties of peripheral conduit arteries in humans. *Hypertension*. 1997;30:1465–1470.
22. Bellien J, Joannides R, Richard V, Thuillez C. Modulation of cytochrome-derived epoxyeicosatrienoic acids pathway: a promising pharmacological approach to prevent endothelial dysfunction in cardiovascular diseases? *Pharmacol Ther*. 2011;131:1–17. doi: 10.1016/j.pharmthera.2011.03.015.
23. Bellien J, Favre J, Iacob M, Gao J, Thuillez C, Richard V, Joannides R. Arterial stiffness is regulated by nitric oxide and endothelium-derived hyperpolarizing factor during changes in blood flow in humans. *Hypertension*. 2010;55:674–680. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.109.142190.
24. Joannides R, Richard V, Moore N, Godin M, Thuillez C. Influence of sympathetic tone on mechanical properties of muscular arteries in humans. *Am J Physiol*. 1995;268(2 pt 2):H794–H801.
25. Bellien J, Iacob M, Gutierrez L, Isabelle M, Lahary A, Thuillez C, Joannides R. Crucial role of NO and endothelium-derived hyperpolarizing factor in human sustained conduit artery flow-mediated dilatation. *Hypertension*. 2006;48:1088–1094. doi: 10.1161/01.HYP.0000246672.72188.bd.
26. Bellien J, Iacob M, Remy-Jouet L, Lucas D, Monteil C, Gutierrez L, Vendeville C, Dreano Y, Mercier A, Thuillez C, Joannides R. Epoxyeicosatrienoic acids contribute with altered nitric oxide and endothelin-1 pathways to conduit artery endothelial dysfunction in essential hypertension. *Circulation*. 2012;125:1266–1275. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.070680.
27. Parati G, Casadei R, Gropelli A, Di Rienzo M, Mancia G. Comparison of finger and intra-arterial blood pressure monitoring at rest and during laboratory testing. *Hypertension*. 1989;13(6 pt 1):647–655.
28. Chowienczyk PJ, Kelly RP, MacCallum H, Millasseau SC, Andersson TL, Gosling RG, Ritter JM, Anggård EE. Photoplethysmographic assessment of pulse wave reflection: blunted response to endothelium-dependent beta2-adrenergic vasodilation in type II diabetes mellitus. *J Am Coll Cardiol*. 1999;34:2007–2014.
29. Nichols W, O'Rourke M, Vlachopoulos C. *McDonald's Blood Flow in Arteries: Theoretical, Experimental and Clinical Principles*. 6th ed. Boca Raton, FL: CRC Press; 2011:1–758.
30. Millasseau SC, Guigui FG, Kelly RP, Prasad K, Cockcroft JR, Ritter JM, Chowienczyk PJ. Noninvasive assessment of the digital volume pulse. Comparison with the peripheral pressure pulse. *Hypertension*. 2000;36:952–956.
31. Millasseau SC, Ritter JM, Takazawa K, Chowienczyk PJ. Contour analysis of the photoplethysmographic pulse measured at the finger. *J Hypertens*. 2006;24:1449–1456. doi: 10.1097/01.hjh.0000239277.05068.87.
32. Shau YW, Wang CL, Shieh JY, Hsu TC. Noninvasive assessment of the viscoelasticity of peripheral arteries. *Ultrasound Med Biol*. 1999;25:1377–1388.
33. Bellien J, Joannides R, Iacob M, Arnaud P, Thuillez C. Calcium-activated potassium channels and NO regulate human peripheral conduit artery mechanics. *Hypertension*. 2005;46:210–216. doi: 10.1161/01.HYP.0000165685.83620.31.
34. Bellien J, Joannides R, Iacob M, Arnaud P, Thuillez C. Evidence for a basal release of a cytochrome-related endothelium-derived hyperpolarizing factor in the radial artery in humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006;290:H1347–H1352. doi: 10.1152/ajpheart.01079.2005.
35. Tardy Y, Meister JJ, Perret F, Brunner HR, Arditì M. Non-invasive estimate of the mechanical properties of peripheral arteries from ultrasonic and photoplethysmographic measurements. *Clin Phys Physiol Meas*. 1991;12:39–54.
36. Laurent S, Girerd X, Mourad JJ, Lacolley P, Beck L, Boutouyrie P, Mignot JP, Safar M. Elastic modulus of the radial artery wall material is not increased in patients with essential hypertension. *Arterioscler Thromb*. 1994;14:1223–1231.
37. Hoeks AP, Willigers JM, Reneman RS. Effects of assessment and processing techniques on the shape of arterial pressure-distension loops. *J Vasc Res*. 2000;37:494–500. doi: 54082.
38. Lénárd Z, Fülöp D, Visontai Z, Jokkel G, Reneman R, Kollai M. Static versus dynamic distensibility of the carotid artery in humans. *J Vasc Res*. 2000;37:103–111. doi: 25721.
39. Albaladejo P, Challande P, Kakou A, Benetos A, Labat C, Louis H, Safar ME, Lacolley P. Selective reduction of heart rate by ivabradine: effect on the visco-elastic arterial properties in rats. *J Hypertens*. 2004;22:1739–1745.
40. Wurzel M, Cowper GR, McCook JM. Smooth muscle contraction and viscoelasticity of arterial wall. *Can J Physiol Pharmacol*. 1970;48:510–523.
41. Toro L, Marijic J, Nishimaru K, Tanaka Y, Song M, Stefani E. Aging, ion channel expression, and vascular function. *Vascul Pharmacol*. 2002;38:73–80.
42. Fleming I. The factor in EDHF: cytochrome P450 derived lipid mediators and vascular signaling. *Vascul Pharmacol*. 2016;86:31–40. doi: 10.1016/j.vph.2016.03.001.
43. Otsuka K, Tanaka H, Horinouchi T, Koike K, Shigenobu K, Tanaka Y. Functional contribution of voltage-dependent and Ca²⁺ activated K⁺ (BK(Ca)) channels to the relaxation of guinea-pig aorta in response to natriuretic peptides. *J Smooth Muscle Res*. 2002;38:117–129.
44. Büsselmaker E, Popp R, Fisslthaler B, Larson CM, Fleming I, Busse R, Brandes RP. Aged spontaneously hypertensive rats exhibit a selective loss of EDHF-mediated relaxation in the renal artery. *Hypertension*. 2003;42:562–568. doi: 10.1161/01.HYP.0000088852.28814.E2.
45. Uhlig MR, Magerle R. Unraveling capillary interaction and viscoelastic response in atomic force microscopy of hydrated collagen fibrils. *Nanoscale*. 2017;9:1244–1256. doi: 10.1039/c6nr07697a.
46. Predescu D, Predescu S, Shimizu J, Miyawaki-Shimizu K, Malik AB. Constitutive eNOS-derived nitric oxide is a determinant of endothelial junctional integrity. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2005;289:L371–L381. doi: 10.1152/ajplung.00175.2004.
47. Alvarez DF, Gjerde EA, Townsley MI. Role of EETs in regulation of endothelial permeability in rat lung. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2004;286:L445–L451. doi: 10.1152/ajplung.00150.2003.

Novelty and Significance

What Is New?

- Endothelium-derived NO and epoxyeicosatrienoic acids regulate wall viscosity in human conduit arteries.
- Smooth muscle tone is implied in the regulation of arterial wall viscosity.
- An endothelium tone-independent regulation of arterial wall viscosity could be involved.

What Is Relevant?

- The consequences of endothelial dysfunction on arterial wall viscosity could explain the excess of energy dissipation and the alteration of cardiovascular coupling during cardiovascular diseases as hypertension.

Summary

First evidence that endothelial factors, NO, and epoxyeicosatrienoic acids, contribute to the regulation of arterial wall viscosity in humans with a role of arterial tone in this regulation.

Evidence for a Role of Vascular Endothelium in the Control of Arterial Wall Viscosity in Humans

Frederic Roca, Michele Iacob, Isabelle Remy-Jouet, Jeremy Bellien and Robinson Joannides

Hypertension. published online November 20, 2017;

Hypertension is published by the American Heart Association, 7272 Greenville Avenue, Dallas, TX 75231

Copyright © 2017 American Heart Association, Inc. All rights reserved.

Print ISSN: 0194-911X. Online ISSN: 1524-4563

The online version of this article, along with updated information and services, is located on the World Wide Web at:

<http://hyper.ahajournals.org/content/early/2017/11/17/HYPERTENSIONAHA.117.09870>

Data Supplement (unedited) at:

<http://hyper.ahajournals.org/content/suppl/2017/11/14/HYPERTENSIONAHA.117.09870.DC1>

Permissions: Requests for permissions to reproduce figures, tables, or portions of articles originally published in *Hypertension* can be obtained via RightsLink, a service of the Copyright Clearance Center, not the Editorial Office. Once the online version of the published article for which permission is being requested is located, click Request Permissions in the middle column of the Web page under Services. Further information about this process is available in the [Permissions and Rights Question and Answer](#) document.

Reprints: Information about reprints can be found online at:

<http://www.lww.com/reprints>

Subscriptions: Information about subscribing to *Hypertension* is online at:

<http://hyper.ahajournals.org/subscriptions/>

**Evidence for a Role of Vascular Endothelium in the Control of Arterial Wall Viscosity
in Humans – Online Supplement**

Authors: Frederic ROCA^{1,2,3,4}, MD; Michele IACOB^{1,2}, MD; Isabelle REMY-JOUET^{2,3}, PhD;
Jeremy BELLIEN^{1,2,3,4}, PharmD, PhD; Robinson JOANNIDES^{1,2,3,4}, MD, PhD.

¹ Rouen University Hospital, Department of Pharmacology, F 76000 Rouen, France

² Normandie Univ, UNIROUEN, Inserm U1096, F 76000, Rouen, France

³ University of Rouen, Institute for Research and Innovation in Biomedicine, Rouen, France.

⁴ Clinical Investigation Center CIC-CRB 1404, Rouen University Hospital, Rouen, France

Corresponding author: Dr Robinson Joannidès, Service de Pharmacologie, Inserm U1096,
CHU de Rouen, 76031 Rouen Cedex, France.

Tel: +33 2 32 88 90 30, Fax: +33 2 32 88 91 16

Email: robinson.joannides@chu-rouen.fr

Supplementary material and method

Mechanics of the radial artery

From the values of arterial pressure (P), internal diameter (d) and wall thickness (h) measured during 10 consecutive heartbeats, the cross-section (S)-pressure curve was fitted as $S = \alpha \{ \pi/2 + \arctan[(P-\beta)/\gamma] \}$, $S = \pi d^2/4$, where α , β , and γ are the 3 optimal fit parameters of the model.¹ The cross-sectional compliance (C) was expressed as $C = (\alpha/\gamma) / \{ 1 + [(P-\beta)/\gamma]^2 \}$, to evaluate the arterial chamber deformability and the incremental elastic modulus (Ei) was expressed as $Ei = 3/8(d[d+2h]^2/h[d+h])\delta P/\delta d$, to evaluate the arterial wall stiffness at operational pressure.^{2,3} The midwall stress (σ), which characterizes the operating conditions related to pressure and arterial geometry, was calculated as $\sigma = 2.MBP(r_i.r_e/r)^2/(r_e^2-r_i^2)$, where MBP is mean blood pressure, r_i and r_e are the internal and external radii, respectively, and r the radius at the midwall as $r = (r_i+r_e)/2$.^{2,3}

Role of NO and EETs in the regulation of AWW

A 27-gauge needle was inserted, under local anesthesia (1% lidocaine), into the brachial artery of the non-dominant arm to permit infusion of saline (0.9%) and pharmacological agents at a constant rate (1 ml/min). Each subject participated to 2 (n=4) or 3 (n=12) exploration visits consisting of 2 randomized inhibitory sequences, taking into account the long-lasting effect of TEA and fluconazole, as previously reported.^{4,5} Subjects received during eight minutes either a NO-synthase inhibitor, *N*^G-monomethyl-L-arginine (L-NMMA: 8 μ mol/min/L of forearm, Bachem), a potent inhibitor of EET-synthesizing enzymes cytochrome P450 epoxygenases, fluconazole (0,4 μ mol/min/L, Pfizer Holding France), the non-specific blocker of vascular K_{Ca} channels which are the cellular targets of EETs mediating their hyperpolarizing and relaxing effect, tetraethylammonium chloride (TEA: 9 μ mol/min/L, Bachem), the association of L-NMMA with fluconazole or the association of L-NMMA with TEA. These doses have been previously used to demonstrate the role of NO and EETs in the regulation of the basal radial artery diameter and mechanical properties without modification in systemic hemodynamics.^{2,4} The pharmacological inhibitors were validated by measuring plasma EETs level by GC-MS and plasma nitrite level, an indicator of NO bioavailability, by chemiluminescence, before and after fluconazole and L-NMMA respectively.⁵⁻⁷

Role of endothelium-independent smooth muscle tone relaxation in the control of AWW

To assess the endothelium-independent effect of smooth muscle tone relaxation on the magnitude of AWW, subjects received sodium nitroprusside (SNP: 20 nmol/min/L, 3 min, SERB Laboratory), an exogenous donor of NO. This dose induces a profound radial artery smooth muscle relaxation without modification in systemic hemodynamics.²

Figure S1. Pressure (black line) and diameter waveforms (grey line) before (A) and after (B) synchronization. Resulting hysteresis loops of one cycle before (C) and after (D) synchronization.

REFERENCES

1. Langewouters GJ, Wesseling KH, Goedhard WJA. The static elastic properties of 45 human thoracic and 20 abdominal aortas in vitro and the parameters of a new model. *J Biomech.* 1984;17:425–435.
2. Bellien J, Joannides R, Iacob M, Arnaud P, Thuillez C. Calcium-Activated Potassium Channels and NO Regulate Human Peripheral Conduit Artery Mechanics. *Hypertension.* 2005;46:210–216.
3. Joannides R, Richard V, Moore N, Godin M, Thuillez C. Influence of sympathetic tone on mechanical properties of muscular arteries in humans. *Am J Physiol.* 1995;268:H794–H801.
4. Bellien J, Joannides R, Iacob M, Arnaud P, Thuillez C. Evidence for a basal release of a cytochrome-related endothelium-derived hyperpolarizing factor in the radial artery in humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2006;290:H1347–H1352.
5. Bellien J, Iacob M, Gutierrez L, Isabelle M, Lahary A, Thuillez C, Joannides R. Crucial Role of NO and Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factor in Human Sustained Conduit Artery Flow-Mediated Dilatation. *Hypertension.* 2006;48:1088–1094.
6. Bellien J, Iacob M, Remy-Jouet I, Lucas D, Monteil C, Gutierrez L, Vendeville C, Dreano Y, Mercier A, Thuillez C, Joannides R. Epoxyeicosatrienoic acids contribute with altered nitric oxide and endothelin-1 pathways to conduit artery endothelial dysfunction in essential hypertension. *Circulation.* 2012;125:1266–1275.
7. MacArthur PH, Shiva S, Gladwin MT. Measurement of circulating nitrite and S-nitrosothiols by reductive chemiluminescence. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2007;851:93–105.

Supplementary Tables

Table S1. Baseline characteristics of the healthy subjects

Parameters	Healthy subjects (n=16)
Age, years	26 [21-42]
Male, n (%)	13 (81%)
Body mass index, kg/m ²	23.1±2.3
Systolic blood pressure, mmHg	120±10
Diastolic blood pressure, mmHg	69±8
Heart rate, bpm	63±10
Total cholesterol, mg/dL	171±35
LDL cholesterol, mg/dL	113±31
HDL cholesterol, mg/dL	45±12
Triglycerides, mg/dL	60±26
Fasting glucose, mg/dL	90±7
Creatinemia, mg/dL	0.90±0.20

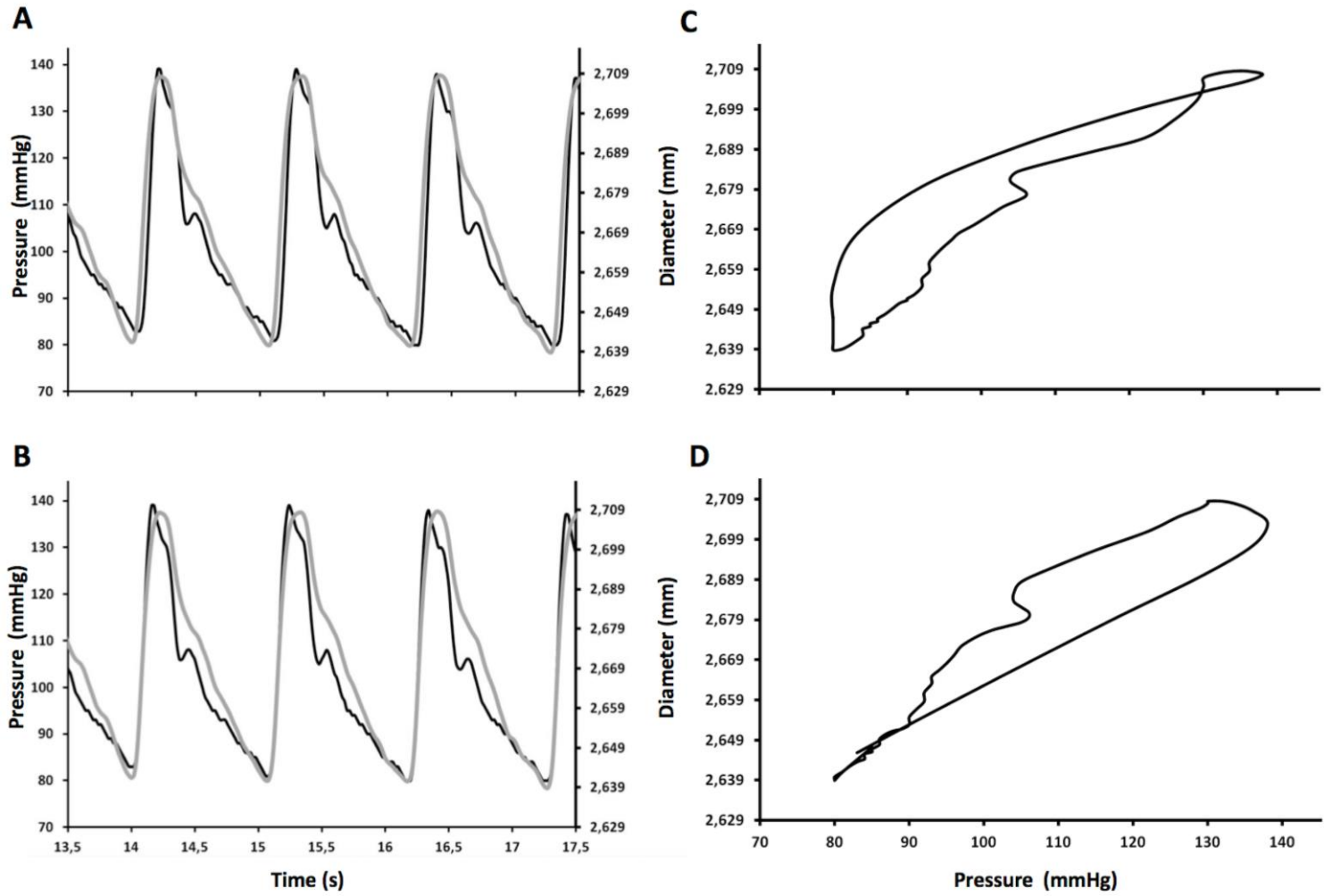
Values are mean±SD or median [IQR 25 – 75]

Table S2. Viscous and elastic energy and relative viscosity of the radial artery before L-NMMA, Fluconazole, TEA, L-NMMA combined with fluconazole or TEA, and SNP

Parameters at baseline	L-NMMA	Fluconazole	TEA	L-NMMA + fluconazole	L-NMMA + TEA	SNP
W_V (10^{-2} J.m ⁻²)	10.7 ± 8.5	6.4 ± 5.1	9.3 ± 4.7	6.6 ± 6.0	10.0 ± 7.1	6.0 ± 3.0
W_E (10^{-2} J.m ⁻²)	29.1 ± 18.7	20.8 ± 15.7	29.2 ± 13.5	20.0 ± 13.8	32.5 ± 23.0	18.0 ± 4.3
W_V/W_E (%)	34.9 ± 8.9	33.5 ± 15.5	32.2 ± 10.0	31.7 ± 6.6	31.6 ± 6.5	33.2 ± 2.0

Values are mean±SD. W_V : Viscous energy dissipated during the unloading phase, W_E : elastic energy stored during the loading phase, L-NMMA: NG -monomethyl-L-arginine, TEA: tetraethylammonium, SNP: sodium nitroprusside.

Supplementary Figure S1



II. Étude n°2 : L'adaptation endothéliale de la viscosité pariétale artérielle lors de l'augmentation du débit sanguin est altérée au cours de l'hypertension artérielle essentielle.

Frederic Roca, Jeremy Bellien, Michele Jacob, Robinson Joannides.

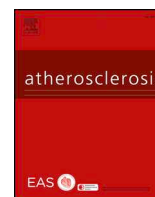
Publié dans *Atherosclerosis*. 2019;285. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2019.04.208

Résumé : La viscosité pariétale artérielle (VPA) est régulée par le monoxyde d'azote (NO) et les acides époxyeicosatriénoïques (EETs) endothéliaux en condition basale physiologique. Le rôle de ces facteurs dans la régulation de la VPA lors de l'augmentation du flux sanguin et l'altération de ce mécanisme chez l'hypertendu (HT) restent cependant inconnus.

L'évolution du diamètre artériel radial, de l'épaisseur pariétale et de la pression artérielle lors d'une augmentation locale du flux sanguin induite par chauffage cutané distal a été mesurée chez 18 HT non traités et 14 sujets contrôle normotendus (NT). Ces mesures ont été réalisées lors de l'injection locale de sérum physiologique ou de L-NMMA et/ou de fluconazole, des inhibiteurs spécifiques de la NO-synthase et de la synthèse des EETs par le cytochrome P450. La VPA a été estimée par le ratio de l'énergie visqueuse dissipée (W_V) et de l'énergie élastique emmagasinée (W_E) obtenues à partir de la relation pression-diamètre. Les variations concomitantes des conditions opérationnelles, qui influencent la VPA, ont également été prises en compte par le calcul de la contrainte pariétale.

Les valeurs basales de W_V et de W_E étaient plus élevées chez l'HT par rapport au NT mais le ratio W_V/W_E était similaire. Sous sérum physiologique, W_V/W_E a augmenté après le chauffage chez l'HT mais pas chez le NT. En présence de L-NMMA et/ou de fluconazole, W_V/W_E a augmenté après le chauffage chez le NT. A l'inverse, ces inhibiteurs n'ont pas modifié l'augmentation de W_V/W_E lors du chauffage chez l'HT en comparaison du sérum physiologique. Dans toutes ces conditions, une augmentation plus importante de W_V par rapport à W_E a expliqué l'augmentation du ratio W_V/W_E .

En conclusion, la libération de NO et d'EETs maintient une VPA stable lors de l'augmentation du flux sanguin et cette régulation adaptative endothéliale est altérée lors de l'hypertension essentielle. Ceci pourrait participer à une dissipation excessive d'énergie et à un découplage cardiovasculaire. La restauration de la biodisponibilité des EETs par des inhibiteurs de l'époxyde hydrolase soluble pourrait ainsi constituer une approche pharmacologique prometteuse pour restaurer cette régulation endothéliale de la VPA



Endothelium-dependent adaptation of arterial wall viscosity during blood flow increase is impaired in essential hypertension



Frederic Roca^{a,b,c,d,*}, Jeremy Bellien^{a,b,c,d}, Michele Jacob^{a,b}, Robinson Joannides^{a,b,c,d}

^a Rouen University Hospital, Department of Pharmacology, F 76000, Rouen, France

^b Normandie Univ, UNIROUEN, Inserm U1096, F 76000, Rouen, France

^c University of Rouen, Institute for Research and Innovation in Biomedicine, Rouen, France

^d Clinical Investigation Center CIC-CRB 1404, Rouen University Hospital, Rouen, France

HIGHLIGHTS

- Endothelium-derived NO and epoxyeicosatrienoic acids maintain stable arterial wall viscosity during increase in blood flow.
- This endothelial regulation is altered in essential hypertension.
- Endothelial factors constitute a pharmacological target to limit arterial energy dissipation.

ARTICLE INFO

Keywords:

Arterial wall viscosity
Endothelium
Nitric oxide
Epoxyeicosatrienoic acids
Hypertension
Endothelial dysfunction

ABSTRACT

Background and aims: Arterial wall viscosity (AWV) is regulated by endothelium-derived NO and epoxyeicosatrienoic acids (EETs) under baseline physiological conditions. Whether these factors regulate AWV during blood flow increase and whether this mechanism is affected in essential hypertensive patients (HT) remain unknown. **Methods:** The evolution of radial artery diameter, wall thickness and arterial pressure in response to an increase in flow induced by hand skin heating were measured in 18 untreated HT and 14 normotensive controls (NT) during local infusion of saline and the respective pharmacological inhibitors of NO-synthase and EETs synthesis by cytochrome P450, L-NMMA and/or fluconazole. AWV was estimated by the ratio of the viscous energy dissipated (W_V) to the elastic energy stored (W_E) obtained from the pressure-diameter relationship. Concomitant changes in operating conditions, which influence the AWV, were taken into account by calculating the midwall stress.

Results: Baseline W_V and W_E were higher in HT than in NT but W_V/W_E was similar. In saline condition, W_V/W_E increased in HT during heating but not in NT. In the presence of L-NMMA and/or fluconazole, W_V/W_E increased during heating in NT. In contrast, these inhibitors did not modify the increase in W_V/W_E during heating in HT compared to saline. In all conditions, a larger increase in W_V than W_E was responsible for the increase in W_V/W_E . **Conclusions:** The release of NO and EETs maintains a stable AWV during flow increase and this endothelial adaptive regulation is lost during essential hypertension, which may promote excessive viscous energy dissipation and cardiovascular uncoupling. Restoration of EETs availability with inhibitors of soluble epoxide hydrolase could thus constitute a promising pharmacological approach to restore the endothelial adaptive regulation of AWV.

1. Introduction

Arterial wall viscosity (AWV) is a physiological phenomenon that takes part in the control of cardiac energy dissipation along the arterial tree. Thus, in viscoelastic conduit arteries, elastic energy (W_E), stored during the loading phase of each beat, is not fully restored during the unloading phase. This results in a hysteresis loop of the artery pressure-diameter relationship

whose area has an energy dimension and corresponds to the viscous energy dissipated (W_V) as heat during each cycle. Thereby, AWV can be expressed as an absolute value of W_V or as a percentage of the W_E stored within the arterial wall (W_V/W_E). AWV notably depends on the passive viscous properties of the smooth muscle layer components, the smooth muscle tone and the operating conditions that determine the magnitude of W_E , W_V and W_V/W_E , which increase with midwall stress [1–4].

* Corresponding author. Service de Pharmacologie, Inserm U1096, CHU de Rouen, 76031, Rouen Cedex, France.
E-mail address: frederic.roca@chu-rouen.fr (F. Roca).

<https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2019.04.208>

Received 28 January 2019; Received in revised form 11 March 2019; Accepted 4 April 2019

Available online 08 April 2019

0021-9150/ © 2019 Elsevier B.V. All rights reserved.

In addition, we recently demonstrated that NO and the lipid mediators produced by endothelial cytochrome P450, epoxyeicosatrienoic acids (EETs), regulate AWV in young healthy humans through tone-dependent and -independent mechanisms [1]. These results were obtained under basal condition, but it is not known whether an adaptation of AWV occurs during situation of increase in flow to adjust energy dissipation and maintain an adequate blood flow propagation, and whether the endothelium plays a role in this adaptation. Moreover, given that the conduit artery endothelial dysfunction in essential hypertension is notably due to the decrease in the bioavailability of NO and EETs, this may affect AWV adaptation and thus cardiovascular coupling [5–7]. In these conditions, the limitation of energy dissipation along the arterial tree could constitute a new physiological dimension in cardiovascular coupling and open the door for the pharmacological modulation of endothelial factors.

The objective of the present study was thus to assess, using a functional approach based on local infusion of pharmacological inhibitors, the role of endothelium-derived NO and EETs in the regulation of AWV during increase in blood flow and to assess the impact of essential hypertension on this regulation.

2. Materials and methods

2.1. Subjects

18 untreated hypertensive subjects (HT) and 14 normotensive controls (NT) participated to this control study. All subjects were nonsmokers, must not have received hormone replacement therapies or statins for the last 6 months, and did not receive any medication at the time of the study. Subjects with cardiac and/or cerebrovascular ischemic disease, heart failure, impaired renal function (estimated glomerular filtration rate lower than 60 mL/min according to the Cockcroft-Gault equation), or other major pathologies were excluded from the study. Secondary forms of hypertension were excluded by routine diagnostic procedures. HT subjects were enrolled if never treated or reporting a medical history of discontinued pharmacological antihypertensive treatment interrupted for at least 3 months before the day of inclusion to exclude possible remnant effects of the drugs on endothelial function. NT controls were frequency-matched on age, sex ratio, body mass index and major vascular risk factors. The study was approved by the local Ethics Committee (Committee for the Protection of Persons of Nord-Ouest I), and all participants gave written informed consent. The study was conducted according with the Principles of Good Clinical Practice and the Declaration of Helsinki and was registered at <https://www.eudract.ema.europa.eu> under the unique identifier RCB2007-A001–10–53.

2.2. General procedure

Measurements were performed in the morning while subjects were in a supine position, in a quiet air-conditioned room, maintained at a constant temperature (22 °C–24 °C). Radial artery internal diameter (d), wall thickness, blood flow (Q) and digital arterial pressure were continuously obtained using a high-precision echotracking device coupled to a Doppler system (NIUS 02, Asulab) and a finger photoplethysmograph (Finapres System, Ohmeda) as previously described [1,6,8–10]. Briefly, these devices allow the measurement of radial artery internal diameter with a resolution on the diameter evolution of less than 1 μm and of blood pressure with a precision of 2 mmHg [11]. Pressure measurements were performed similarly before and after blood flow increase in accordance with previous results showing that the finger pressure waveform and its relationship with the radial pressure waveform are poorly affected by local changes in tone [12–15]. Increase in blood flow was obtained by progressive hand skin heating (from 34 °C to 44 °C) as previously described [6]. Total blood viscosity was measured with a cone-plate viscometer (Ex100 CTB,

Brookfield) at a shear rate of 241 s^{-1} at 37 °C and the mean arterial wall shear stress was calculated on the basis of a Poiseuille model as $\tau = [(4\mu Q)/(\pi r^3)]$, ($r = d/2$) [6,16]. The midwall stress (σ), which characterizes the operating conditions related to pressure and arterial geometry, was calculated as $\sigma = 2 \cdot \text{MBP}(r_i \cdot r_e / r)^2 / (r_e^2 - r_i^2)$, where MBP is mean blood pressure, r_i and r_e are the internal and external radii, respectively, and r the radius at the midwall as $r = (r_i + r_e)/2$ [8,17].

2.3. Pharmacological inhibitors

The forearm volume of each volunteer was measured by the water displacement method to adjust the doses of the pharmacological agents to be infused. The NO-synthase inhibitor N^G-monomethyl-L-arginine (L-NMMA) (Bachem), the inhibitor of cytochrome P450 fluconazole (Pfizer Holding), and L-NMMA associated with fluconazole, were used to assess the role of endothelium-derived NO and EETs in the regulation of AWV as previously described [18]. Briefly, a 27-gauge needle was inserted under local anesthesia (1% lidocaine) into the brachial artery of the nondominant arm to permit the continuous infusion of saline (0.9%) or inhibitors during the entire heating procedure. To obtain high cumulative doses and to compensate for the diluting effect of the increase in flow during heating (from 10 to 50 mL/min in control conditions), we increased the dose of inhibitors between 34 °C and 44 °C [9]. Therefore, the starting dose of L-NMMA of 8 $\mu\text{mol}/\text{min}$ per liter was infused during 8 min at 34 °C and 20 $\mu\text{mol}/\text{min}$ per liter at 44 °C [18]. Similarly, fluconazole was infused at a dose of 0.4 $\mu\text{mol}/\text{min}$ per liter at 34 °C and 1.6 $\mu\text{mol}/\text{min}$ per liter at 44 °C [18].

2.4. Measurement of AWV

AWV was estimated from the pressure-diameter relationship as previously described [1,4,19,20]. W_E was assessed for each cardiac cycle by integrating the pressure-diameter area during the loading phase i.e., from diastolic to systolic pressure, and is thus graphically, bounded by the area under the pressure-diameter relationship, the pulse pressure and the pulse diameter (Supplementary Fig. 1). The area of the hysteresis loop of the pressure-diameter relationship obtained during the loading and unloading phases, which has similarly a dimension of energy, corresponds in fact to the energy dissipated in viscous work (W_V) by the arterial wall during one cardiac cycle. The loop area was measured by image analysis software (ImageJ). Energies are expressed in joules per square meters during one cycle. AWV is expressed either in absolute value of W_V or as a percentage of the energy stored during the loading phase (relative viscosity = $W_V/W_E \cdot 100$) [1,19,21,22]. The calculation of hysteresis was made after the temporal synchronization of the feet of pressure and diameter waves (Supplementary Fig. 2A and B). These waveforms were synchronized manually after defining the feet of the wave as the minimal values of pressure and diameter just before the ascending phase of each cycle. Feet synchronization resulted in the graphical superposition of the two upshot phases as previously described [1,23]. Data presented for AWV was the average of at least 3 cardiac cycles. Coefficient of variation of the measure of relative viscosity by this method was 11.6% based on preliminary results.

2.5. Statistical analysis

Statistics were performed using the SYSTAT package (SYSTAT 8.0; SPSS). Qualitative variables are presented as absolute and relative frequencies. Continuous variables are presented in the text and table as median [interquartile range, IQR 25–75] or mean \pm SD according to data normality and mean \pm SEM in figures. Previous studies suggest a similar baseline relative viscosity between NT and HT [24]. Based on our previous results observed after inhibition with L-NMMA and fluconazole at baseline in young healthy subjects (32.2% increase of relative viscosity), we hypothesize a 30% increase in relative viscosity in

HT subjects with endothelial dysfunction after heating [1]. Consequently, the sample size was estimated at 14 subjects per group for a 5% α -risk and a power $1-\beta$ at 90%. Comparisons between NT and HT baseline characteristics were performed using a Student *t*-test or a Mann-Whitney test as appropriate. The effect of hand skin heating on the radial artery parameters was assessed using a General Linear Model including subjects, inhibitors (including saline) and group as factors. In case of significant hand skin heating effect, inhibitors effect, group effect or interaction, this analyze was followed by single comparisons: 1) the evaluation of the effect of hand skin heating, for each sequence of inhibition, on radial artery parameters, in NT and HT, with a paired *t*-test or Wilcoxon matched-pairs signed rank test as appropriate; 2) in each sequence of inhibition, the comparison of changes in radial artery parameters after hand skin heating between NT and HT was evaluated with a Student *t*-test or a Mann-Whitney test as appropriate; 3) the comparison of the effect of inhibitors versus saline in NT and HT groups was evaluated by a paired *t*-test or Wilcoxon matched-pairs signed rank test as appropriate. Results of the single comparisons are presented in tables and figures, and only the General Linear Model results about the main outcome (W_V/W_E ratio), is presented in the text to simplify the results section. Finally, variations of W_E and W_V were expressed in percent change from baseline and the comparison of the effect of each inhibitor on these variations was assessed using Wilcoxon matched-pairs signed rank test. A value of $p < 0.05$ was considered statistically significant.

3. Results

3.1. Comparison between HT and NT subjects at baseline

At baseline there was no difference between NT and HT for demographic parameters. SBP, DBP, MBP, pulse pressure and heart rate were higher in HT than NT (Table 1). Ten subjects have a grade 1 hypertension and eight a grade 2 hypertension. There was no significant

Table 1
Baseline characteristics of normotensive controls and hypertensive patients.

Parameters	Normotensive controls (n = 14)	Hypertensive patients (n = 18)	p
Age, y	49.4 ± 8.2	51.5 ± 10.5	0.54
Male, n (%)	10 (71.4)	12 (66.7)	1.0
BMI, kg/m ²	24.4 ± 2.7	26.4 ± 3.9	0.12
Systolic blood pressure, mmHg	133 ± 17	161 ± 14	< 0.001
Diastolic blood pressure, mmHg	80 ± 12	97 ± 10	< 0.001
Mean blood pressure, mmHg	98 ± 13	119 ± 11	< 0.001
Pulse pressure, mmHg	53 ± 9	65 ± 11	0.004
Heart rate, bpm	62 ± 9	74 ± 10	0.002
Fasting glucose, mmol/L	5.4 ± 0.3	5.6 ± 0.7	0.28
Total cholesterol, mmol/L	5.5 ± 0.8	5.6 ± 0.9	0.77
HDL cholesterol, mmol/L	1.3 ± 0.2	1.2 ± 0.3	0.34
LDL cholesterol, mmol/L	3.7 ± 0.7	3.8 ± 0.9	0.84
Triglycerides, mmol/L	1.0 ± 0.5	1.3 ± 0.9	0.31
Estimated GFR, mL/min	100 ± 24	110 ± 28	0.32
Total blood viscosity, cP	3.7 ± 0.4	4.1 ± 0.6	0.06

BMI: Body mass index; HDL: High density lipoprotein; LDL: Low density lipoprotein; GFR: Glomerular filtration rate.
* $p < 0.05$ versus Normotensive controls.

Table 2
Baseline radial artery parameters in normotensive controls and hypertensive patients.

Parameters	Normotensive controls (n = 14)	Hypertensive patients (n = 18)	p
Radius to wall thickness ratio	6.2 ± 1.0	5.0 ± 0.5	< 0.001
Radial artery mean wall shear stress, 10 ⁻¹ Pa	3.9 ± 2.7	4.2 ± 2.3	0.70
Midwall stress, 10 ¹ kPa	7.3 ± 1.7	6.9 ± 0.8	0.35
W_V , 10 ⁻² J/m ²	7.3 ± 4.1	12.0 ± 6.2	0.03
W_E , 10 ⁻² J/m ²	18.3 ± 9.2	28.3 ± 12.0	0.02
W_V/W_E , %	40.2 ± 5.9	40.3 ± 7.1	0.95

W_V : Viscous energy; W_E : Elastic energy. * $p < 0.05$ versus Normotensive controls.

difference between groups for midwall stress and mean wall shear stress, characterizing respectively the baseline operating conditions and endothelial flow stimulus. In these conditions, W_V was higher in HT than NT. This increase in W_V was associated with a parallel increase in W_E in HT, resulting in a similar baseline W_V/W_E ratio between groups (Table 2).

3.2. Effect of increase in wall shear stress on AWV in NT and HT

In saline conditions, hand skin heating resulted in a similar increase in mean wall shear stress in NT and HT without change in arterial pressure (Table 3). At the same time, midwall stress increased in both groups but to a larger extent in NT than in HT. In these conditions, W_E and W_V increased in both groups. However, in NT, the increases in W_E and W_V were similar (Table 3) resulting in a stable W_V/W_E ratio (Fig. 1A), whereas in HT, W_V/W_E increased (Fig. 1A) due to a larger increase in W_V than expected from the increase in W_E (Table 3). These results suggest that an active mechanism prevents the increase in AWV in response to the flow-associated increase in midwall stress in NT and the loss of this mechanism in HT.

3.3. Role of NO and EETs in the regulation of AWV during increase in wall shear stress in NT and HT

In all inhibition sequences, hand skin heating resulted in an increase in mean wall shear stress in both groups without change in arterial pressure (Table 3). The effect of inhibitors on change in W_V/W_E ratio during the increase in mean wall shear stress was different between NT and HT ($p = 0.02$ for the interaction between hypertension and sequences of inhibition), suggesting an impaired regulation of AWV by endothelial factors during hypertension.

In NT, the increase in mean wall shear stress is associated with an increase in W_V/W_E after fluconazole, L-NMMA and their combination (Fig. 1B–D). This effect was explained by a larger increase in W_V than

Table 3

Variations of the radial artery parameters during hand skin heating in presence of saline, fluconazole, L-NMMA and L-NMMA + fluconazole in normotensive controls and hypertensive patients.

Parameters	Saline		Fluconazole		L-NMMA		L-NMMA + fluconazole	
	NT	HT	NT	HT	NT	HT	NT	HT
ΔMBP, mmHg	1.4 ± 8.9	-1.5 ± 11.3	1 ± 8	3.4 ± 15.7	7.4 ± 10.2	3.9 ± 7.6	3.2 ± 9.8	3.8 ± 7.3
ΔPP, mmHg	-0.6 ± 10.9	-1.6 ± 9.4	-0.1 ± 7.5	-1.3 ± 13.4	2.1 ± 11.1	1.8 ± 6.3	1.2 ± 10.9	2.8 ± 10.6
ΔR/h	2.0 ± 1.0*	1.3 ± 0.9*§	1.3 ± 0.4*†	1.1 ± 0.6*	0.9 ± 0.7*†	0.7 ± 0.8*†	0.8 ± 0.8*†	0.3 ± 0.6†
ΔMWSS, 10 ⁻¹ Pa	12.1 ± 7.4*	12.9 ± 9.4*	10.1 ± 6.6*	9.8 ± 8.1*	14.7 ± 12.8*	9.0 ± 6.5*	9.4 ± 7.9*	12.3 ± 9.1*
Δσ, 10 ⁴ kPa	2.7 ± 0.8*	1.8 ± 1.4*§	1.9 ± 0.4*†	2 ± 1.1*	1.8 ± 1.3*†‡	1.1 ± 1.1*†‡	1.4 ± 0.9*†‡	0.7 ± 1.3†‡
ΔW _V , % change from baseline	37 [-26, 55]*	54 [32, 60]*	47 [19, 50]*	42 [33, 51]*	75 [66, 170]*	50 [34, 83]*	35 [16, 107]*	82 [6, 303]*
ΔW _E , % change from baseline	26 [-25, 50]*	37 [9, 45]*	23 [9, 35]*	31 [17, 38]*	25 [5, 92]*	30 [10, 50]*	12 [2, 75]*	43 [-6, 192]*

NT: Normotensive controls; HT: Hypertensive patients; MBP: Mean blood pressure; PP: Pulse pressure; R/h: Radius to wall thickness ratio; PD: Pulse diameter; MWSS: Radial artery mean wall shear stress; σ: Midwall stress; W_V: Viscous energy; W_E: Elastic energy. *p < 0.05 versus 34 °C, †p < 0.05 versus saline, ‡p < 0.05 versus fluconazole; §p < 0.05 versus NT; || p < 0.05 versus ΔW_E.

W_E (Table 3). All these results were obtained despite a lower increase in midwall stress during heating in presence of the inhibitors compared to saline, particularly with L-NMMA and L-NMMA + fluconazole (Table 3). This demonstrates the role of NO and EETs in the regulation of AWV during the increase in flow in NT.

In HT, the W_V/W_E increased in all inhibition sequences (Fig. 1B–D), because of a larger increase in W_V than W_E (Table 3). The magnitude of the increase in W_V/W_E with all inhibitors was similar than during saline infusion, suggesting the absence of involvement of endothelial factors in the regulation of AWV in HT. However, while the increase in midwall stress was not modified by fluconazole as compared to saline, it was reduced by L-NMMA and L-NMMA + fluconazole (Table 3). The similar increase in W_V/W_E despite the lower increase in midwall stress with NO-synthase inhibition suggests that a residual release of NO partially opposes the increase in W_V/W_E related to the increase in midwall stress

in HT. Conversely, the similar change in W_V/W_E and midwall stress in saline and fluconazole conditions suggests the absence of EETs release after blood flow increase during hypertension.

4. Discussion

Our results demonstrate that NO and EETs maintain a stable AWV during flow increase in NT and that this regulation is altered in HT due to a larger increase in viscous than elastic work. Excessive loss of energy may contribute to impair cardiovascular coupling during hypertension in situation of increase in flow [5,25–27].

The study was performed in hypertensive patients and normotensive controls at the level of the radial artery to assess in vivo the endothelium-mediated flow-dependent regulation of the viscous behavior of peripheral conduit arteries and the impact of essential hypertension

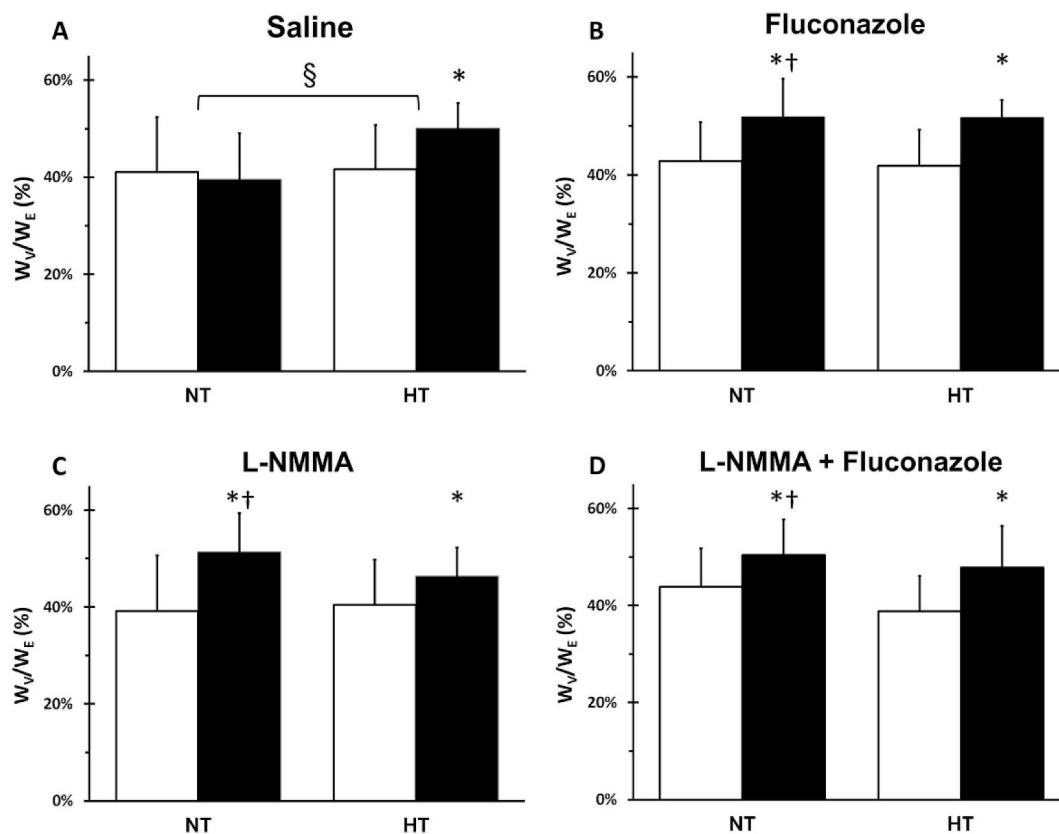


Fig. 1. Effect of hand skin heating on W_V/W_E ratio obtained at 34 °C (□) and 44 °C (■), under saline (A), fluconazole (B), L-NMMA (C) and L-NMMA + fluconazole (D) conditions.

NT: Normotensive controls; HT: Hypertensive patients. *p < 0.05 vs. 34 °C, §p < 0.05 vs. NT, †p < 0.05 vs. saline.

on this regulation. Untreated HT and NT were frequency-matched for the main cardiovascular risk factors to suppress their confounding effect. Viscous behavior of the radial artery was evaluated using a thermodynamic approach by measuring the hysteresis loop of the pressure–diameter relationship obtained using validated high-resolution echo-tracking methods [1,4,8,17,28,29]. Pressure and diameter waves were thus precisely synchronized on the foot of each wave resulting in the alignment of the upshot of the pressure and diameter pulses [23,30]. This step of synchronization is crucial and manually realized because it has been previously demonstrated that a little misalignment of the two waveforms, i.e. secondary to the different location of pressure and diameter measurements, could be responsible for an overestimation of the AWV [30]. Moreover, this approach was used to analyze the viscosity phenomenon as the source of energy dissipated by the arterial wall considering the energy delivered during the cardiac cycle [19,20,22]. Thus, in addition to the measurement of the area of the hysteresis loop corresponding to the energy dissipated during the cardiac cycle, we measured W_E as specified in the methods section to express arterial viscous behavior as the absolute value of W_V and as relative to one of its main determinant W_E [1,4,19]. These parameters were obtained at baseline and after the increase in forearm blood flow induced by using the hand skin heating method that enable to calculate the mean arterial wall shear stress at different flow level and to compare the flow-dependent response between hypertensive patients and control subjects [3]. Furthermore, we infused pharmacological inhibitors of NO and EETs synthesis to evaluate the role of the endothelium in the flow-dependent regulation of viscous behavior of the radial artery [1,16]. Thus, it was possible to evaluate the effect of endothelial factors on absolute and relative viscosity in absence of systemic effect and to consider simultaneous changes in arterial midwall stress, another major determinant of AWV [11,31].

In these conditions, in accordance with previous data obtained at the level of the carotid artery and the thoracic aorta by using different methods, including time domain analysis, the radial artery W_V was increased in HT as compared with NT [24,32,33]. As previously stressed, this phenomenon is probably partly related to the vascular smooth muscle cells hypertrophy associated to the adaptive intima-media thickening to prevent the increase in midwall stress [34]. However, W_E was also increased in relation with the increased PP in HT patients, resulting in a stable W_V/W_E and supporting an effective adaptive process at rest [34].

During the hand skin heating, we observed for the first time in vivo, a different viscous response to the increase in arterial blood flow between NT and HT. Thus, under saline condition, there was no significant change in W_V/W_E in NT, due to a similar increase in W_V and W_E , whereas W_V/W_E increased in HT, due to a larger increase in W_V than W_E . The increase in blood flow in NT is known to be associated with the release of endothelial-derived relaxing factors responsible for the increase in radial artery diameter, i.e. flow-mediated dilation, and midwall stress and for the decrease in isometric vascular smooth muscle tone [6,11,35]. In HT, the endothelial dysfunction is associated with an impairment of endothelial factors release. Thus, during flow stimulation, the magnitude of the increase in pulse diameter at stable pulse pressure determined the magnitude of the increase in the area under pressure-diameter relationship during the loading phase, explaining the increase in W_E in NT and the reduction of this increase in HT. This phenomenon corresponds to an increase in the energy mobilized during the increase in flow. In parallel, the increase in W_V is explained by the close relationship between W_E and W_V and the dependence of W_V to midwall stress, which is a major determinant of the viscous behavior [24,36]. However, in the present work we observed a larger increase in W_V than W_E in HT than in NT, despite the lower increase in midwall stress, suggesting that the relationship between W_E and W_V is different. Thus, in addition to W_E and midwall stress, a third mechanism is involved in the adaptation of W_V/W_E to flow increase. Consequently, we showed the role of NO and EETs in the regulation of AWV during

increase in flow in NT. Indeed, L-NMMA and/or fluconazole infusion resulted in an increase in AWV despite a lower increase in midwall stress than during saline conditions. This result argues for a physiological balance between the increasing effect of midwall stress and the decreasing effect of the release of EETs and NO on AWV during increase in blood flow. To note, the absence of additive effect of the combined inhibition as compared to each inhibitor alone may result from the marked reduction in the increase in midwall stress, explaining an attenuated increase in W_V/W_E compared to that expected from the disappearance of endothelial factors.

In HT, the increase in W_V/W_E induced by heating was similar during saline and all inhibition conditions. For fluconazole, this was observed in presence of similar increase in midwall stress than during saline infusion, demonstrating the loss of EETs influence on AWV during HT. In fact, this result is in accordance with our previous findings in HT showing, using a biological approach, the abolition of EETs release during flow stimulation [16]. Conversely, there was a lesser increase in midwall stress with L-NMMA alone and combined with fluconazole compared to saline during heating, and this should have been associated with a lesser increase in W_V/W_E . In fact, the higher increase in W_V/W_E relative to midwall stress after NO-synthase inhibition confirms that a residual release of NO during flow stimulation occurs in HT, allowing to partially oppose the increase in AWV [6,7].

This excessive energy loss in HT patients could promote an increase in cardiac work and cardiovascular uncoupling but also could accelerate degenerative process thus, contributing to the development of arteriosclerosis.

In this context, it remains to be carefully investigated whether the correction of endothelial dysfunction restores a normal AWV. In particular, the restoration of NO bioavailability using angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitors is associated with positive effects on endothelial dysfunction and arterial stiffness in human hypertension, but little information is available regarding AWV [7,37]. Only one previous study reported a parallel decrease in viscous and elastic works after ACE inhibition in HT patients at baseline, with a stable ratio [24]. However, even when blood pressure is normalized with conventional antihypertensive agents, third of the patients still have a persistent endothelial dysfunction that hampers the prognosis of patients [38]. In this context, the restoration of EETs bioavailability using inhibitors of their degradation by soluble epoxide hydrolase inhibitors may be of particular interest. These agents have been shown to correct endothelial dysfunction in animal models of reno-vascular hypertension and some of them entered the first phases of clinical development [39,40]. These inhibitors constitute a new promising pharmacological class to finally prevent endothelial dysfunction and to improve arterial mechanics in particular allowing the reduction of AWV.

In conclusion, these results demonstrate for the first time in humans that endothelial-derived NO and EETs contribute to maintain a stable AWV of peripheral conduit arteries during the increase in blood flow in physiological conditions and that this regulatory mechanism is impaired in HT. The pharmacological correction of these abnormalities could be of interest to improve the cardiovascular prognosis of patients with HT.

Conflict of interest

The authors declared they do not have anything to disclose regarding conflict of interest with respect to this manuscript.

Author contributions

F.R. and R.J. contribute to the design of the study, data management, writing and reviewing process, J.B contribute to the design of the study, acquisition of data, writing and reviewing process, M.I. contribute to the design of the study, acquisition of data and reviewing process.

Financial support

This study was supported by grants from the Société Française d'Hypertension Artérielle and from the Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (Inserm).

Acknowledgements

The authors thank Laurence Gutierrez (Clinical Investigation Center CIC-CRB 1404, Rouen University Hospital, Rouen, Normandie, France) for her technical assistance.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2019.04.208>.

References

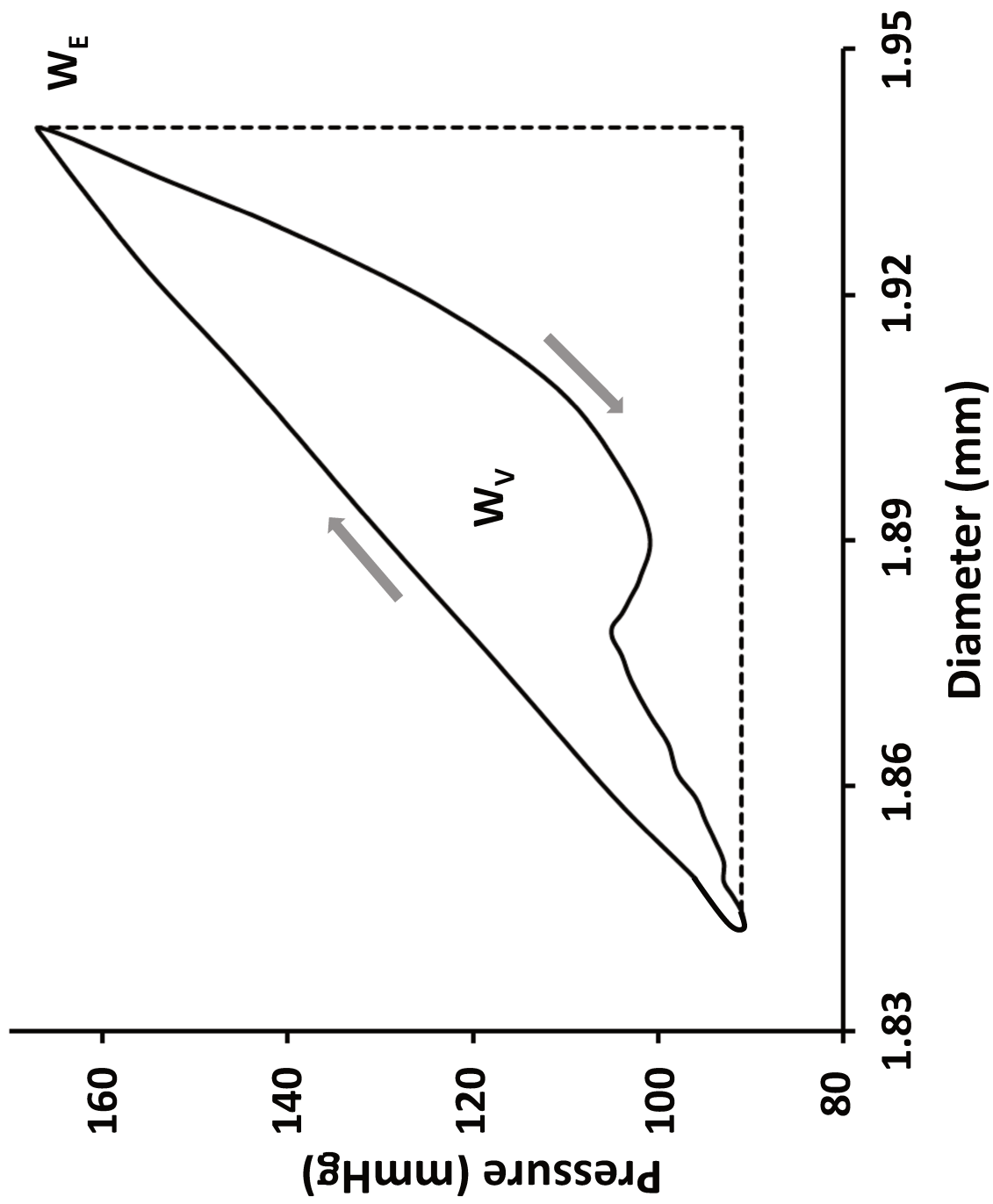
- [1] F. Roca, M. Iacob, I. Remy-Jouet, J. Bellien, R. Joannides, Evidence for a role of vascular endothelium in the control of arterial wall viscosity in humans, *Hypertension* 71 (2018) 143–150.
- [2] R. Busse, R.D. Bauer, T. Sattler, A. Schabert, Dependence of elastic and viscous properties of elastic arteries on circumferential wall stress at two different smooth muscle tones, *Pflügers Archiv* 390 (1981) 113–119.
- [3] D.H. Bergel, The dynamic elastic properties of the arterial wall, *J. Physiol.* 156 (1961) 458–469.
- [4] P. Boutouyrie, S. Boumaza, P. Challande, P. Lacolley, S. Laurent, Smooth muscle tone and arterial wall viscosity: an in vivo/in vitro study, *Hypertension* 32 (1998) 360–364.
- [5] M. Cusmà Piccione, C. Zito, B. Khandheria, A. Madaffari, A. Oteri, G. Falanga, et al., Cardiovascular maladaptation to exercise in young hypertensive patients, *Int. J. Cardiol.* 232 (2017) 280–288.
- [6] J. Bellien, M. Iacob, I. Remy-Jouet, D. Lucas, C. Monteil, L. Gutierrez, et al., Epoxyeicosatrienoic acids contribute with altered nitric oxide and endothelin-1 pathways to conduit artery endothelial dysfunction in essential hypertension, *Circulation* 125 (2012) 1266–1275.
- [7] L. Ghiadoni, D. Versari, A. Magagna, I. Kardasz, Y. Plantinga, C. Giannarelli, et al., Ramipril dose-dependently increases nitric oxide availability in the radial artery of essential hypertension patients, *J. Hypertens.* 25 (2007) 361–366.
- [8] R. Joannides, V. Richard, N. Moore, M. Godin, C. Thuillez, Influence of sympathetic tone on mechanical properties of muscular arteries in humans, *Am. J. Physiol.* 268 (1995) H794–H801.
- [9] J. Bellien, J. Favre, M. Iacob, J. Gao, C. Thuillez, V. Richard, et al., Arterial stiffness is regulated by nitric oxide and endothelium-derived hyperpolarizing factor during changes in blood flow in humans, *Hypertension* 55 (2010) 674–680.
- [10] G. Parati, R. Casadei, A. Groppelli, M.D. Rienzo, G. Mancia, Comparison of finger and intra-arterial blood pressure monitoring at rest and during laboratory testing, *Hypertension* 13 (1989) 647–655.
- [11] R. Joannides, V. Richard, W.E. Haefeli, A. Benoist, L. Linder, T.F. Lüscher, et al., Role of nitric oxide in the regulation of the mechanical properties of peripheral conduit arteries in humans, *Hypertension* 30 (1997) 1465–1470.
- [12] P.J. Chowienzyk, R.P. Kelly, H. MacCallum, S.C. Millasseau, T.L.G. Andersson, R.G. Gosling, et al., Photoplethysmographic assessment of pulse wave reflection, *J. Am. Coll. Cardiol.* 34 (1999) 2007–2014.
- [13] S.C. Millasseau, F.G. Guigui, R.P. Kelly, K. Prasad, J.R. Cockcroft, J.M. Ritter, et al., Noninvasive assessment of the digital volume pulse, *Hypertension* 36 (2000) 952–956.
- [14] S.C. Millasseau, J.M. Ritter, K. Takazawa, P.J. Chowienzyk, Contour analysis of the photoplethysmographic pulse measured at the finger, *J. Hypertens.* 24 (2006) 1449–1456.
- [15] W. Nichols, M. O'Rourke, C. Vlachopoulos, McDonald's blood flow in arteries, *Theoretical, Experimental and Clinical Principles*, sixth ed., CRC Press, 2011.
- [16] J. Bellien, I. Remy-Jouet, M. Iacob, E. Blot, A. Mercier, D. Lucas, et al., Impaired role of epoxyeicosatrienoic acids in the regulation of basal conduit artery diameter during essential hypertension, *Hypertension* 60 (2012) 1415–1421.
- [17] J. Bellien, R. Joannides, M. Iacob, P. Arnaud, C. Thuillez, Calcium-activated potassium channels and NO regulate human peripheral conduit artery mechanics, *Hypertension* 46 (2005) 210–216.
- [18] J. Bellien, M. Iacob, L. Gutierrez, M. Isabelle, A. Lahary, C. Thuillez, et al., Crucial role of NO and endothelium-derived hyperpolarizing factor in human sustained conduit artery flow-mediated dilatation, *Hypertension* 48 (2006) 1088–1094.
- [19] P. Boutouyrie, Y. Bézie, P. Lacolley, P. Challande, P. Chamiot-Clerc, A. Benetos, et al., In vivo/in vitro comparison of rat abdominal aorta wall viscosity. Influence of endothelial function, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 17 (1997) 1346–1355.
- [20] C.D. Bertram, Energy dissipation and pulse wave attenuation in the canine carotid artery, *J. Biomech.* 13 (1980) 1061–1073.
- [21] Y.W. Shau, C.L. Wang, J.Y. Shieh, T.C. Hsu, Noninvasive assessment of the viscoelasticity of peripheral arteries, *Ultrasound Med. Biol.* 25 (1999) 1377–1388.
- [22] R.M. Alexander, *Animal Mechanics*, Blackwell Scientific, 1983.
- [23] Z. Lénárd, D. Fülöp, Z. Visontai, G. Jokkel, R. Reneman, M. Kollai, Static versus dynamic distensibility of the carotid artery in humans, *J. Vasc. Res.* 37 (2000) 103–111.
- [24] R.L. Armentano, J.G. Barra, D.B. Santana, F.M. Pessana, S. Graf, D. Craiem, et al., Smart damping modulation of carotid wall energetics in human hypertension: effects of angiotensin-converting enzyme inhibition, *Hypertension* 47 (2006) 384–390.
- [25] J.H. Mitchell, Abnormal cardiovascular response to exercise in hypertension: contribution of neural factors, *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 312 (2017) R851–R863.
- [26] C.Y. Shim, S. Park, E.-Y. Choi, G.-R. Hong, D. Choi, Y. Jang, et al., The relationship between ventricular-vascular uncoupling during exercise and impaired left ventricular longitudinal functional reserve in hypertensive patients, *J Am Soc Hypertens* 7 (2013) 198–205.
- [27] A. Nitenberg, A. Loiseau, I. Antony, Left ventricular mechanical efficiency in hypertensive patients with and without increased myocardial mass and with normal pump function, *Am. J. Hypertens.* 14 (2001) 1231–1238.
- [28] Y. Tardy, J.J. Meister, F. Perret, H.R. Brunner, M. Arditi, Non-invasive estimate of the mechanical properties of peripheral arteries from ultrasonic and photoplethysmographic measurements, *Clin. Phys. Physiol. Meas.* 12 (1991) 39.
- [29] S. Laurent, X. Girerd, J.J. Mourad, P. Lacolley, L. Beck, P. Boutouyrie, et al., Elastic modulus of the radial artery wall material is not increased in patients with essential hypertension, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 14 (1994) 1223–1231.
- [30] A.P. Hoeks, J.M. Willigers, R.S. Reneman, Effects of assessment and processing techniques on the shape of arterial pressure-distension loops, *J. Vasc. Res.* 37 (2000) 494–500.
- [31] J. Bellien, R. Joannides, M. Iacob, P. Arnaud, C. Thuillez, Evidence for a basal release of a cytochrome-related endothelium-derived hyperpolarizing factor in the radial artery in humans, *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 290 (2006) H1347–H1352.
- [32] R. Armentano, J.L. Megnien, A. Simon, F. Bellenfant, J. Barra, J. Levenson, Effects of hypertension on viscoelasticity of carotid and femoral arteries in humans, *Hypertension* 26 (1995) 48–54.
- [33] C. Stefanadis, J. Dernellis, C. Vlachopoulos, C. Tsioufis, E. Tsimias, K. Toutouzas, et al., Aortic function in arterial hypertension determined by pressure-diameter relation effects of diltiazem, *Circulation* 96 (1997) 1853–1858.
- [34] R.L. Armentano, S. Graf, J.G. Barra, G. Velikovskiy, H. Baglivo, R. Sánchez, et al., Carotid wall viscosity increase is related to intima-media thickening in hypertensive patients, *Hypertension* 31 (1998) 534–539.
- [35] D.J. Green, E.A. Dawson, H.M.M. Groenewoud, H. Jones, D.H.J. Thijssen, Is flow-mediated dilation nitric oxide mediated?: a meta-analysis, *Hypertension* 63 (2014) 376–382.
- [36] F. Orban, Damping of materials and members in structures, *J. Phys. Conf. Ser.* 268 (2011) 012022.
- [37] A.C. Cameron, N.N. Lang, R.M. Touyz, Drug treatment of hypertension: focus on vascular health, *Drugs* 76 (2016) 1529–1550.
- [38] M.G. Modena, L. Bonetti, F. Coppi, F. Bursi, R. Rossi, Prognostic role of reversible endothelial dysfunction in hypertensive postmenopausal women, *J. Am. Coll. Cardiol.* 40 (2002) 505–510.
- [39] J. Gao, J. Bellien, E. Gomez, J.-P. Henry, B. Dautreux, F. Bounoure, et al., Soluble epoxide hydrolase inhibition prevents coronary endothelial dysfunction in mice with renovascular hypertension, *J. Hypertens.* 29 (2011) 1128–1135.
- [40] A.L. Lazaar, L. Yang, R.L. Boardley, N.S. Goyal, J. Robertson, S.J. Baldwin, et al., Pharmacokinetics, pharmacodynamics and adverse event profile of GSK2256294, a novel soluble epoxide hydrolase inhibitor, *Br. J. Clin. Pharmacol.* 81 (2016) 971–979.

SUPPLEMENTARY FIGURES LEGENDS

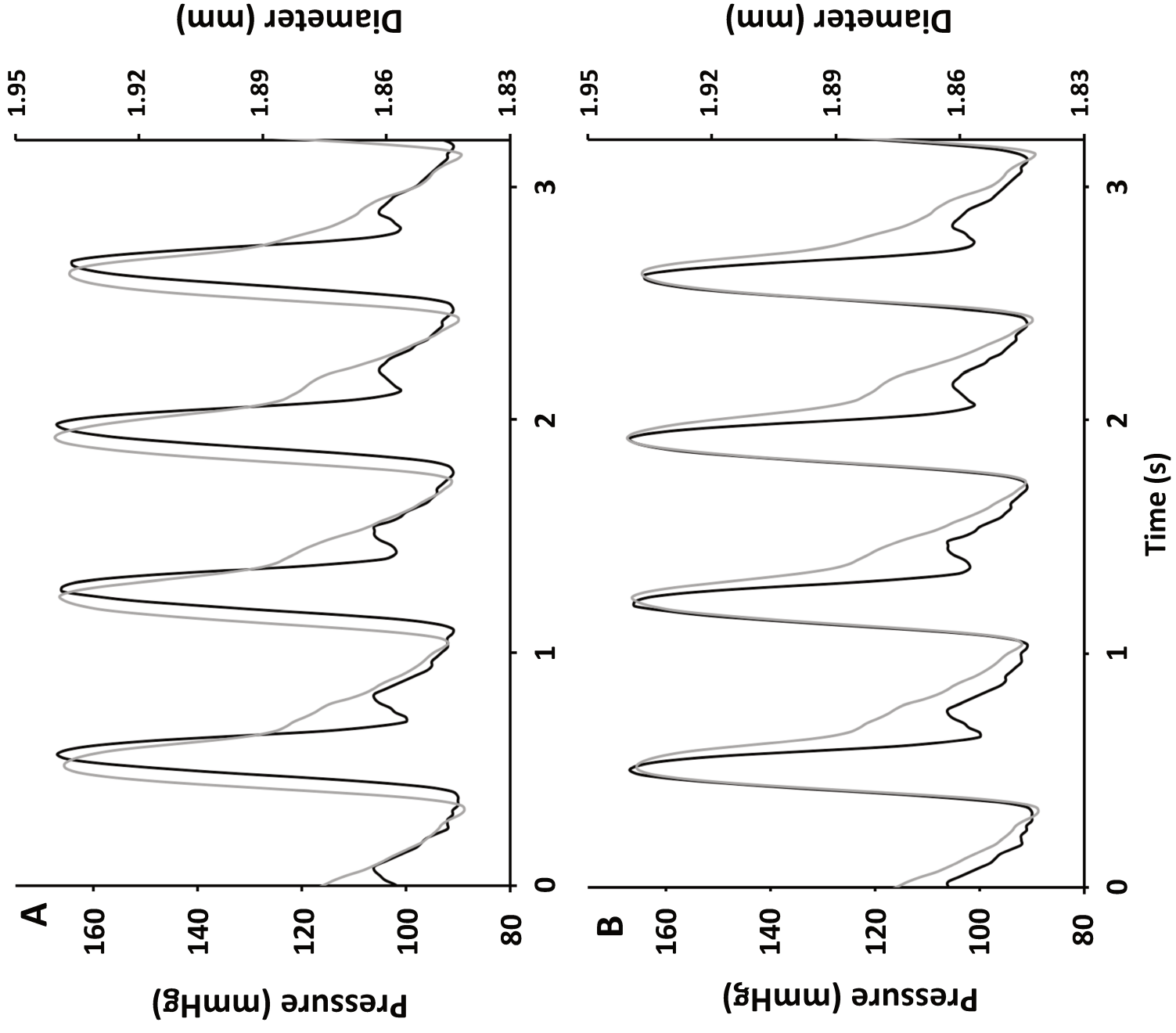
Supplementary figure 1: Typical pressure-diameter relationship obtained after temporal synchronization of the pressure and diameter waveforms and resulting in a hysteresis loop. The energy dissipated in viscous work (W_v) during the loading and unloading phases (ascending and descending grey arrow respectively) is represented by the area of the hysteresis loop. The energy stored during the distension phase (W_E) is represented by the area under the loading phase bounded by the dash lines. The relative viscosity corresponds to the ratio between W_v and W_E .

Supplementary figure 2: Pressure (black line) and diameter (grey line) waveforms before (A) and after (B) feet-to-feet temporal synchronization.

Supplementary figure 1

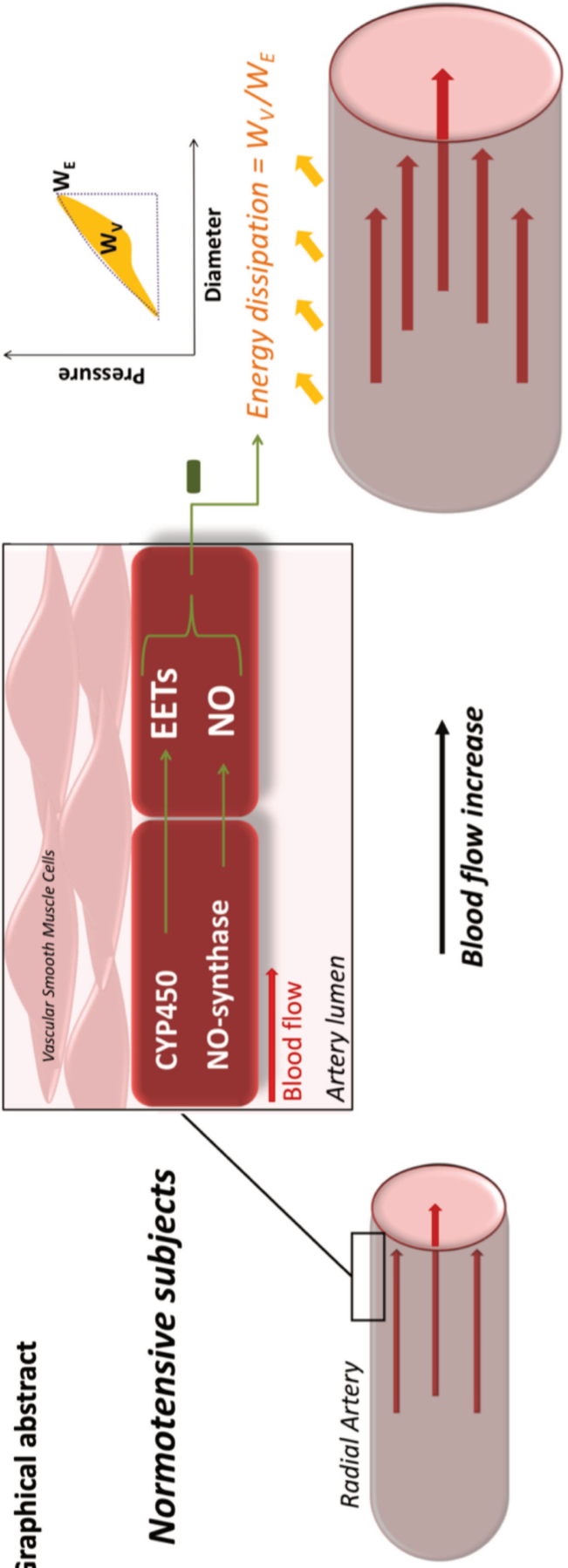


Supplementary figure 2

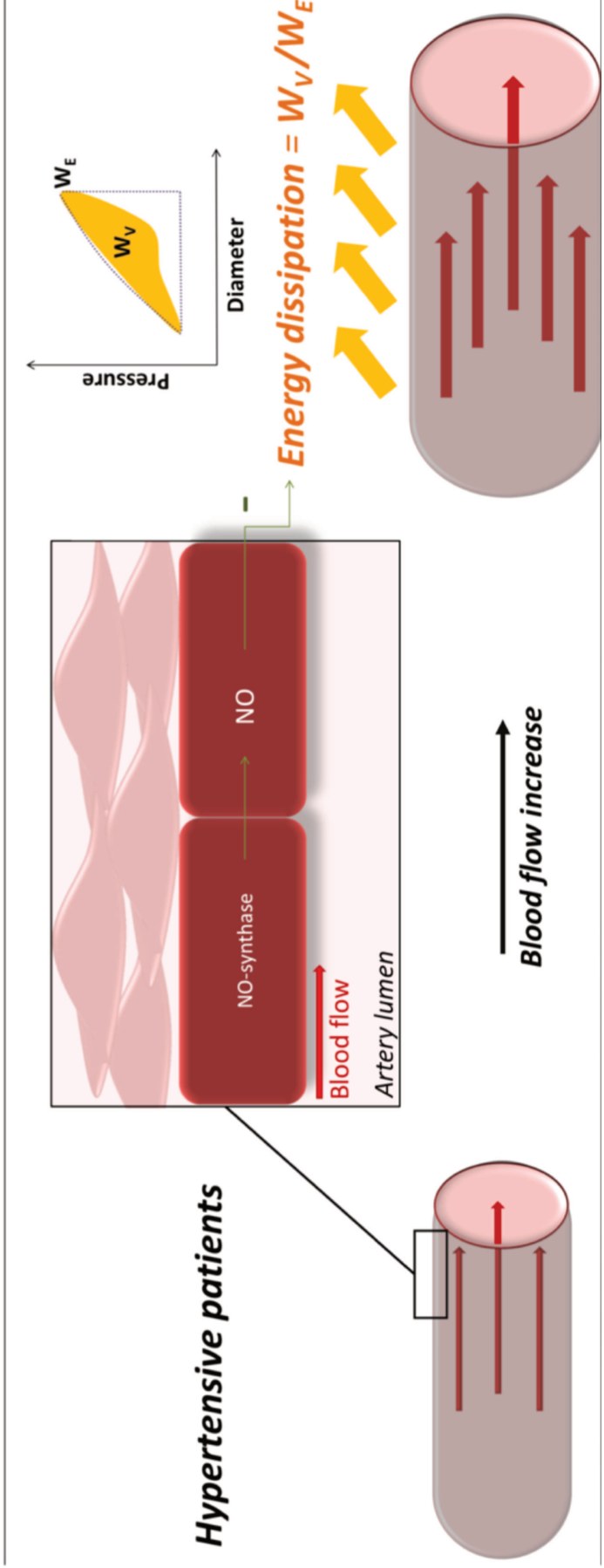


Graphical abstract

Normotensive subjects



Hypertensive patients



III. Étude n°3 : Effet de la réduction pharmacologique de la fréquence cardiaque par l'ivabradine sur la viscosité pariétale de l'artère carotide.

Frédéric Roca, Michèle Jacob, Thomas Dufлот, Caroline Thill, Jeremy Bellien, Robinson Joannides

Résumé : L'augmentation de la fréquence cardiaque (FC) de repos est associée à une augmentation du risque cardiovasculaire qui pourrait être secondaire à une augmentation de la rigidité artérielle et à des modifications de la viscosité pariétale artérielle (VPA). La VPA est responsable d'une dissipation de l'énergie emmagasinée dans la paroi artérielle à chaque cycle cardiaque. Le bénéfice d'une diminution de la FC sur la mécanique artérielle, incluant la VPA, est cependant inconnu. Nos objectifs ont été d'évaluer chez le volontaire sain, l'effet de la bradycardie induite par l'ivabradine sur la VPA carotidienne, en tenant compte des modifications concomitantes des propriétés mécaniques et de l'hémodynamique artérielle. L'impact de l'âge sur cet effet a également été évalué.

Nous avons inclus 19 volontaires dans une étude monocentrique, randomisée, contrôlée contre placebo, en double aveugle et en cross-over. Les effets de l'administration répétée d'ivabradine 5 mg deux fois par jour pendant une semaine sur le couplage cardiovasculaire, l'hémodynamique cardiaque et systémique ainsi que sur l'hémodynamique, la mécanique et la VPA carotidienne ont été évalués. La viscosité relative (W_V/W_E) a été exprimée par le ratio entre la surface de la boucle d'hystérèse de la relation pression-section luminale, qui représente l'énergie dissipée (W_V), et l'aire sous la courbe de charge, qui correspond à l'énergie élastique emmagasinée (W_E) au cours du cycle cardiaque. Les effets de l'âge ont été évalués en comparant les volontaires jeunes (âge < 45 ans) et d'âge moyen (âge > 45 ans).

L'ivabradine a diminué significativement la FC comparée au placebo ($-10,2 \pm 6,6$ vs. $-2,1 \pm 4,9$ bpm, $p < 0,001$). L'ivabradine a augmenté significativement le volume d'éjection systolique, le volume télé-diastolique ($p < 0,001$ et $p = 0,001$ respectivement), l'augmentation carotidienne ($p = 0,01$), l'index d'augmentation ($p = 0,045$) et l'index de Buckberg ($p = 0,002$). La distension a augmenté significativement ($p < 0,001$) et la distensibilité a augmenté significativement ($p = 0,04$). Dans ce contexte, W_V et W_E ont augmenté significativement ($p = 0,024$ et $p < 0,001$ respectivement) sous ivabradine comparativement au placebo. La viscosité relative W_V/W_E à l'état basal était à $15,1 \pm 6,5$ % et est restée stable après ivabradine ($p = 0,16$).

A l'état basal, les volontaires d'âge moyen présentaient une augmentation de la rigidité artérielle marquée et un couplage cardiovasculaire moins favorable que les jeunes. Dans ce contexte, W_E était comparable dans les deux groupes alors que W_V et donc W_V/W_E étaient plus

bas chez les sujets d'âge moyen ($p=0,017$ et $p=0,006$ respectivement). Comparé au placebo, l'ivabradine a été associée à une plus grande augmentation de W_V/W_E dans le groupe d'âge moyen par rapport au groupe jeune ($p=0,022$), secondaire à une augmentation de W_V ($p=0,03$). En conclusion, chez le volontaire sain, la réduction de la FC par l'ivabradine augmente l'énergie emmagasinée par la paroi artérielle résultant en une augmentation adaptative de l'énergie dissipée. Le vieillissement s'accompagne d'une perte de ce processus adaptative résultant en une plus grande dissipation d'énergie. Ces éléments pourraient expliquer en partie la diminution du bénéfice cardiovasculaire observé en réponse à la bradycardie pharmacologique chez les patients plus âgés.

Effect of Pharmacological Reduction of Heart Rate by Ivabradine on Carotid Artery Wall Viscosity

Frederic Roca^{a,b,c,d,*}, Michele Iacob^{a,b}, Thomas Dufлот^{a,b,c,d}, Caroline Thill^e, Jeremy Bellien^{a,b,c,d}, Robinson Joannides^{a,b,c,d}

^a Rouen University Hospital, Department of Pharmacology, F 76000, Rouen, France

^b Normandie Univ, UNIROUEN, Inserm U1096, F 76000, Rouen, France

^c University of Rouen, Institute for Research and Innovation in Biomedicine, Rouen, France

^d Clinical Investigation Center CIC-CRB 1404, Rouen University Hospital, Rouen, France

^e Rouen University Hospital, Department of Biostatistic, F 76000, Rouen, France

Short title: Heart rate reduction and Arterial wall viscosity

Text words count: 5066

Word count of abstract: 366

2 Figures, 4 tables, 3 supplementary figures, 2 supplementary tables

***Corresponding author:** Dr Frédéric ROCA, Service de Pharmacologie, Inserm U1096, CHU de Rouen, 76031 Rouen Cedex, France.

Tel: +33 2 32 88 05 39, Fax: +33 2 32 88 91 16

Email: frederic.roca@chu-rouen.fr

KEYWORDS

Ivabradine, artery, wall viscosity, stiffness, heart rate

ABSTRACT

Increased resting heart rate (HR) is associated with a higher cardiovascular risk that could be related to an increase in arterial stiffness and changes in arterial wall viscosity (AWV). AWV is responsible for dissipation of the energy stored within the arterial wall at each cardiac cycle. Whether lowering HR is beneficial on arterial wall mechanics, including AWV, is unknown. Our objectives were to assess in healthy volunteers the effect of bradycardia induced by ivabradine on carotid AWV considering associated changes in arterial mechanics and hemodynamics and the impact of aging on this effect.

We conducted a monocentric, randomized, placebo-controlled, double-blind, cross-over study in 19 volunteers. The effect of one-week administration of ivabradine 5mg b.i.d on cardiovascular coupling, cardiac and systemic hemodynamics and carotid hemodynamics, mechanics and AWV was evaluated. Relative viscosity (W_V/W_E) was expressed as the ratio of the area of the hysteresis loop of the pressure–lumen cross-sectional area relationship, representing the energy dissipated (W_V), to the area under the loading phase, corresponding to the elastic energy stored (W_E). Effect of aging was evaluated by comparing young and middle-aged volunteers.

Ivabradine decreased HR compared to placebo (-10.2 ± 6.6 vs. -2.1 ± 4.9 bpm, $p < 0.001$). Ivabradine increased stroke and end-diastolic volumes ($p < 0.001$ and $p = 0.001$ respectively), augmentation pressure ($p = 0.01$), augmentation index ($p = 0.045$) and Buckberg index ($p = 0.002$). Carotid distension and distensibility significantly increased ($p < 0.001$ and $p = 0.04$ respectively). In this context, W_V and W_E increased ($p = 0.024$ and $p < 0.001$ respectively) under ivabradine compared to placebo but W_V/W_E remained stable ($p = 0.16$).

At baseline, middle-aged volunteers (53 ± 5 years) had a marked increase in arterial stiffness and a less favorable cardiovascular coupling than younger participants (32 ± 6 years). In this context, W_E was similar but W_V and thus relative viscosity W_V/W_E was significantly lower ($p = 0.017$ and $p = 0.006$ respectively) in the middle-aged group. Compared to placebo, ivabradine was associated with a larger increase in W_V/W_E in the middle-aged group than in the young group ($p = 0.022$) due to an increase in W_V ($p = 0.03$).

In conclusion, an adaptative increase in energy dissipation occurs in healthy human during HR reduction with ivabradine to compensate the increase in the elastic energy stored within the arterial wall. Aging is associated with the loss of this adaptative process resulting in a larger energy dissipation.

INTRODUCTION

Increased resting heart rate (HR) is identified as a marker of cardiovascular (CV) risk, and its role as a risk factor is highly suspected.¹ This may be related to an increase in arterial stiffness, a major independent predictor of CV events.^{2,3} Indeed, many studies showed that a high HR is associated with an increase in carotid to femoral pulse wave velocity (cfPWV) in general populations and in hypertensive subjects.^{3,4} Moreover, acute increase in HR by pacing increases cfPWV and large arteries stiffness in human.⁴⁻⁷ Some authors suggested that this stiffening could be due to changes in the arterial wall viscosity (AWV) but without clear evidence.^{4,5,7-10} In fact, mechanical behavior of arteries is viscoelastic, but the viscous component, which is time-dependent, has been less investigated than elasticity. Moreover, the impact of HR on AWV is controversial both in vitro and in animal models.^{9,11-14} This could be related to differences in the methods used to assess AWV.^{9,12-14} In a thermodynamic point of view, AWV is responsible for the dissipation as heat of a part of the mechanical energy stored within the arterial wall during each cardiac cycle. Thus, the hysteresis loop resulting from the shift between the loading and unloading phases of the pressure-lumen cross sectional area curves (P-LCSA loop) corresponds, in a consensual manner, to the dissipated energy (W_v), whereas the area under the loading curve reflects the elastic energy stored (W_e).^{15,16} Consequently, AWV can be expressed as the absolute value of the loop area or as a ratio (W_v/W_e), considering thus one of its major determinants.^{15,16} The mechanism by which HR modulates AWV is unknown but could be related to a direct effect on intrinsic viscous properties by modifying the time and the magnitude of stretch^{5,8,17}, or an indirect effect of HR on the vascular endothelium, a determinant of AWV, through changes in shear stress.^{18,19} In addition, in aging and different pathological conditions, HR-lowering agents such as ivabradine, a selective I_f -current inhibitor without negative inotropic effect, or betablockers, demonstrated conflicting results on arterial wall mechanics and prognosis.²⁰⁻²⁶ In these situations the positive effect of HR reduction on arterial stiffness could be override by the increase in energy dissipation and thus leads to cardiovascular uncoupling.^{24,25,27} Whether lowering HR in healthy volunteers is beneficial on arterial wall mechanics, including AWV, is unknown. Moreover, how aging could impact this effect needs to be evaluated.

In this context, the objectives of the study were to assess the effect of bradycardia induced by repeated administration of ivabradine on carotid AWV considering associated changes in arterial mechanics and hemodynamics in healthy volunteers and the impact of aging on this effect.

METHODS

Volunteers

20 volunteers were recruited by the Centre d'Investigation Clinique–Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale 1404 and the Department of Pharmacology of Rouen University Hospital. Main inclusion criteria were an age between 25 and 65 years old, a resting HR upper than 70 bpm after 15 minutes of rest and to be deemed healthy based on interview, clinical examination, electrocardiographic and routine biological evaluation. Women had to have a contraceptive or to be in menopause. Exclusion criteria included a body mass index (BMI) lower than 18 kg/m² or upper than 30 kg/m², hypotension (<90/50 mmHg) or hypertension (>140/90 mmHg) at rest, active smoking (>5 cigarettes/day), hypercholesterolemia, intensive sport activity (>1 hour/day), chronic kidney disease (creatinine clearance \leq 60 ml/min/1.73m² with Cockcroft and Gault formula), liver or cardiac failure, electrocardiogram (ECG) abnormalities, having a pacemaker and all cardiac or retinal diseases. Volunteers had no medications except contraceptive or casual acetaminophen. The study was approved by the local ethics committee (Comité de Protection des Personnes Nord-Ouest I, n° CPP 01/004/2014), and all participants gave written informed consent. The study was conducted according to the Principles of Good Clinical Practice and the Declaration of Helsinki. The study was registered at ClinicalTrials.gov Identifier: 2015/077/HP and EudraCT Number: 2015-002060-17.

Study design

The study was a monocentric, randomized, placebo-controlled, double-blind, cross-over study. Each subject had an inclusion visit (V0), 4 investigation visits (V1 to V4) and an end-of-study visit (V5). Inclusion criteria were checked at V0 visit and then randomization was performed. Volunteers were randomly allocated to ivabradine 5 mg b.i.d and a placebo in a cross-over design during a period of 8 days: one pill at day 1 at the end of the V1 or V3 and then a pill b.i.d during 6 days and a last pill at day 8, before V2 or V4 investigations. V2 and V3 were separated by a 14-days wash-out period (Supplementary figure 1). This dosage and this duration of treatment have been chosen expecting a 10 bpm decrease of HR and/or a HR lower to 60 bpm and to reach the steady-state concentration of ivabradine according to the half-life of the treatment (12 hours).

General procedure (V1 to V4)

Each investigation visits were performed according to the same design. Measurements were performed in the morning while volunteers were in a supine position in a quiet air-conditioned room maintained at a constant temperature (22°C to 24°C). Volunteers were allowed to take a light breakfast, without tea, coffee, sugar or fat. They were not allowed to smoke for 12 hours. After 15 minutes, resting HR, systolic and diastolic blood pressure (bSBP and bDBP) were measured 3 times on the right arm using an oscillometric device (Omron® 750IT) and ECG (Phillips®) was performed.

Common carotid geometry and AWW

Assessment of common carotid AWW was developed based on previous studies in animal models and radial artery in humans.^{15,16,19,28} P-LCSA relationship was obtained by the continuous and simultaneous measurement of local pressure by aplanation tonometry (Millar Instruments® SPT 301B) and local diameter by high-resolution echotracking (WallTrackSystem, ® Esaote Pie Medical®) at the level of right and left common carotid arteries respectively.^{29–31} All measurements were performed by the same trained operator pair. External diameter (d_e) and intima-media thickness (IMT) were measured at the level of carotid posterior wall, 1 cm beneath the carotid bifurcation as previously described.³¹ The pressure signal was simultaneously acquired and computerized by the echotracking system at the acquisition frequency of 30 Hz. The pressure waveform was calibrated from DBP and mean blood pressure (MBP) through a computerized procedure developed in our department. We calculated instantaneous IMT ($IMT_{(inst)}$) and $LCSA_{(inst)}$ from instantaneous external diameter ($d_{e(inst)}$), assuming the incompressibility of the wall. Thus, wall cross-sectional area (WCSA), which is constant along the cardiac cycle was calculated as:

$$WCSA = \pi r_e^2 - \pi r_i^2, \text{ with } r_e = d_{e(mean)}/2 \text{ and } r_i = (d_{e(mean)} - 2 \cdot IMT_{mean})/2$$

Where r_e the external radius of the carotid, r_i the internal radius of the carotid, $d_{e(mean)}$ the mean external diameter and IMT_{mean} the mean IMT measured at each cycle. Then, we have:

$$LCSA_{(inst)} = \pi r_e^2 - WCSA$$

Instantaneous internal diameter $d_{i(inst)}$ was:

$$d_{i(inst)} = 2 \cdot \sqrt{\frac{LCSA_{(inst)}}{\pi}}$$

and

$$\text{IMT}_{\text{inst}} = d_{e(\text{inst})} - d_{i(\text{inst})}$$

Despite the simultaneous recording of the pressure and diameter waveforms at the same level of each carotid, we systematically visually checked the synchronization of the feet of the waves for each acquisition but no additional post-acquisition resynchronization was necessary (Supplementary figure 2A).¹⁶

Thus, the pressure-LCSA relationship was obtained and AWV was estimated from the hysteresis loop as previously described.^{15,16} W_E was assessed for each cardiac cycle by integrating the P-LCSA area during the loading phase i.e., from diastolic to systolic pressure, and is thus graphically, bounded by the area under the systolic P-LCSA relationship, the pulse pressure and the pulse diameter (Supplementary figure 2B). The area of the P-LCSA loop obtained during the loading and unloading phases, which has a dimension of energy, corresponds to the energy dissipated in viscous work (W_V) by the arterial wall during one cardiac cycle. The loop area was measured by image analysis software (ImageJ).¹⁶ Values of AWV are the mean of at least 3 cardiac cycles on 3 different acquisitions. Energies are expressed in joules per meter during one cycle. AWV is expressed either in absolute value of W_V or as a percentage of the energy stored during the loading phase (relative viscosity = $W_V/W_E \cdot 100$) (Supplementary figure 2B).^{16,19} The practical precision of this method is given by the precision of pressure and diameter measurements (2 mmHg and 21 μm , respectively) and can be estimated as $2.79 \times 10^{-3} \text{ J.m}^{-1}$.^{16,32}

Pulse wave analysis

Radial artery pressure waveforms of the same arm were recorded non-invasively by applanation tonometry calibrated using systolic and diastolic brachial pressures and processed with dedicated software (SphygmoCor® version 7, AtCor Medical). Right carotid pressure waveforms were recorded in the same manner and calibrated from diastolic pressure and the mean blood pressure determined by the integration of radial waveform. Carotid pressure waveform was subjected to further analysis by the SphygmoCor software to identify the time to the shoulder of the first and second pressure wave components during systole. The pressure at the shoulder of the first component was identified as P1 height (forward pressure wave), and the pressure difference between this point and the maximal pressure during systole (augmentation: AP) was identified as the reflected pressure wave. Augmentation index (AIx) was defined as the ratio of augmentation to central pulse pressure: $\text{AIx} = (\text{AP}/\text{cPP}) \times 100$. The AIx normalized to the HR at 75 bpm was also reported. Carotid to brachial amplification (c-b

amplification) was expressed as the ratio of central systolic blood pressure (cSBP) to bSBP. Moreover, the time to return of the reflection wave of the aortic waveform was automatically calculated from the beginning of systole to the inflection point, and ejection time from the beginning to the end of systole to the inflection point. The Buckberg index was calculated as the ratio of the central diastolic to systolic pressure time integral (DPTI/SPTI) and represents the subendocardial viability resulting from changes in central hemodynamics, i.e. an estimate of the balance between myocardial supply (perfusion) and demand (work).³³

Carotid-to-femoral pulse wave velocity (cfPWV), an index of aortic stiffness, was determined by successive measurement of pressure waves at the carotid and femoral arteries with the same device (Sphygmocor®) as previously described.²

Common carotid artery elastic properties

Circumferential wall stress (σ) was calculated according to Lamé's equation as $\sigma = (\text{MBP} \cdot d_i) / (2 \cdot \text{IMT})$, where MBP and d_i are mean blood pressure and mean internal diameter respectively. Arterial compliance and distensibility were estimated through the variations in arterial cross-sectional area (ΔLCSA) and blood pressure (ΔP), assuming the lumen to be circular. The cross-sectional compliance coefficient was calculated as $\text{CC} = \Delta\text{LCSA} / \Delta\text{P}$ and cross-sectional distensibility coefficient as $\text{DC} = \Delta\text{LCSA} / (\text{LCSA}_d \cdot \Delta\text{P})$ where LCSA_d is the diastolic lumen area. The incremental Young's elastic modulus (E_{inc}), an index of the carotid wall material stiffness, was calculated as $E_{\text{inc}} = \frac{3(1 + \frac{\text{LCSA}_d}{\text{WC SA}})}{\text{DC}}$.^{31,34}

Carotid blood flow and shear stress

The systolic and mean carotid blood velocity (v) were evaluated by Doppler (ArtLab system, Esaote Pie Medical®) at the same level as geometry. The systolic and mean wall shear stress (sWSS and mWSS) were calculated on the basis of a Poiseuille model as $\text{WSS} = 2\mu v / r_i$, with μ the total blood viscosity measured with a cone-plate viscometer (Ex100 CTB, Brookfield®) at a shear rate of 241 s^{-1} at 37°C.

Systemic hemodynamics and cardiac parameters

Systemic hemodynamics and cardiac parameters were evaluated by impedance cardiography (PhysioFlow® PF-05 Lab1TM, software version 2.7.0, Manatec Biomedical).³⁵ The following parameters were obtained: Cardiac output (CO), stroke volume (SV), ejection fraction (EF), end-diastolic volume (EDV). Moreover, total peripheral resistance (TPR) was calculated from the ratio of mean blood pressure (MBP) to CO. Left ventricular end-systolic elastance (E_{es}), a

measure of cardiac contractility, was calculated as the ratio of end systolic pressure (Pes) obtained with carotid tonometry and the end systolic volume (ESV) calculated as $ESV = EDV - SV$.²¹

Statistical analysis

Results are expressed as mean±SD unless indicated otherwise. Statistical analysis was performed in the per-protocol population using SAS®. Homogeneity of the groups was checked for each parameter investigated by the comparison between the two treatment sequences at baseline using paired t-test. For all parameters, differences between mean baselines and end of treatment values were compared between treatment and placebo using a repeated general linear model. The changes in circumferential wall stress was added to the model to evaluate the carotid wall mechanics (CC, DC and Einc). Moreover, AWW percent changes from baseline was also compared between treatment and placebo using a repeated general linear model. The impact of aging on the treatment effect was evaluated by comparing two age classes, the young (< 45 years) and middle-aged (> 45 years) volunteers. Baselines of this two groups were compared with a repeated general linear model with age as factor. Circumferential wall stress was added to the model for carotid wall mechanics. Finally, differences between mean baselines to end of treatment values, for all parameters and percent changes from baseline, for AWW, were compared between treatment and placebo using repeated general linear model with age class as factor. $P < 0.05$ was considered statistically significant.

RESULTS

Baseline characteristics

20 healthy volunteers (14 women (70 %), mean age 43.7 ± 12 years) were included in the study. Baseline characteristics of the 20 volunteers at V0 are presented in Table 1. There was no difference for these parameters between the treatment sequence (Data not shown).

One randomized volunteer was withdrawn from the study before treatment administration because of a low heart rate at V1 despite a HR upper than 70 bpm at V0 (Supplementary figure 3). Thus, 9 volunteers received ivabradine then placebo and 10 received placebo then ivabradine.

There was no difference between V1 and V3 for all parameters (supplementary Table 1). At baseline, resting HR was 71.4 ± 7.4 bpm (Table 2). Mean baselines for all cardiovascular parameters are presented in tables 2, 3 and 4.

Effect of treatment on cardiac and systemic hemodynamics (Table 2)

Ivabradine significantly decreased HR compared to placebo ($p < 0.001$) and did not significantly change bSBP, bDBP, bMBP and bPP. Thus, cyclic stretch, the product of HR and bPP, significantly decreased ($p = 0.001$) under ivabradine.

Ivabradine increased SV and EDV ($p < 0.001$ and $p = 0.001$ respectively) without change in ESV, CO and EF. This suggests an increase in preload of the left ventricle with no change in contractility, as evidenced by a stable Ees. In the same time, TPR did not change.

Effect of treatment on central pressure and cardiovascular coupling

Ivabradine tended to increase cPP ($p = 0.07$), due to non-significant increase in cSBP and decrease in cDBP. There was no change in the c-b amplification under treatment (Table 2). The HR reduction due to ivabradine resulted in an increase in the period ($p < 0.001$) associated with an increase in ejection duration ($p < 0.001$) and in ejection duration/Period ratio ($p < 0.001$), demonstrating a more pronounced increase in diastolic than systolic time with the HR lowering (Table 3). Moreover, reflection time tended to decrease ($p = 0.05$). In this context, AP increased with ivabradine ($p = 0.01$) whereas P1 height remained stable. The marked increase in AP and the slight increase in cPP resulted in a significant increase in AIx ($p = 0.045$) under ivabradine, but this effect disappeared when adjusting on HR at 75 bpm (AIx75) (Table 3).

Buckberg index significantly increased with ivabradine compared to placebo ($p = 0.002$) due to a significant increase in DPTI ($p = 0.014$) but not in SPTI (Table 3).

In addition, treatment with ivabradine did not modify cfPWV (Table 3).

Effect of treatment on carotid geometry, mechanics and hemodynamics (Table 4)

Treatment with ivabradine did not change diastolic internal diameter but increased carotid distension ($p < 0.001$). Ivabradine did not modify circumferential wall stress but CC and DC increased and Einc significantly decreased after adjusting on changes in circumferential wall stress ($p = 0.07$; $p = 0.04$ and $p = 0.05$ respectively).

Mean carotid blood flow and mWSS were stable but carotid systolic blood flow and sWSS increased non significantly with ivabradine compared to placebo ($p = 0.11$ and $p = 0.07$ respectively).

Effect of treatment on AWW

Baseline W_V and W_E were $1.74 \pm 1.28 \text{ J.m}^{-1}$ and $11.07 \pm 4.89 \text{ J.m}^{-1}$. Thus, relative viscosity was $15.1 \pm 6.5 \%$. W_V and W_E increased under ivabradine compared to placebo ($46 [-22; 122]$ vs. $-10 [-33; 8] \%$ changes, $p = 0.024$, and $26 [16; 41]$ vs. $-1 [-11; 9] \%$ changes, $p < 0.001$, respectively; Figure 1A and 1B), explaining a near stable relative viscosity W_V/W_E ($p = 0.16$) (Figure 1C).

Effect of aging on cardiovascular parameters.

8 volunteers were in the young group (mean age = 32.4 ± 5.6 years, 6 women) and 11 volunteers were in the middle-aged group (mean age = 53.4 ± 5.0 years, 8 women). Baseline parameters are presented in supplementary table 2. At baseline, HR, peripheral and central blood pressures and diastolic internal diameter were similar in the two groups. Conversely, carotid distension was lower and IMT was higher in the middle-aged group ($p = 0.039$ and $p = 0.001$ respectively). As expecting with aging and despite a lower circumferential wall stress ($p = 0.004$), middle-aged group had a lower compliance and distensibility ($p = 0.03$ and $p = 0.009$, respectively) and a higher cfPWV ($p = 0.001$) and elastic modulus ($p = 0.028$ after adjusting on circumferential wall stress). Increase in arterial stiffness and increase in TPR ($p = 0.039$) resulted in a higher reflection of the pressure wave, explaining a higher AP and AIx and a lower c-b amplification ($p = 0.002$, $p = 0.003$ and $p = 0.12$ respectively). Thus, cardiovascular coupling was less favorable in the middle-aged group, especially while cardiac output tended to be lower.

Concerning elastic energy stored, W_E was similar in middle-aged and young volunteers, especially after adjustment on circumferential wall stress ($p = 0.89$). In this context, W_V was

significantly lower ($p = 0.017$) in the middle-aged group, but this association tended to disappear after adjustment on circumferential wall stress ($p = 0.132$). Thus, relative viscosity W_V/W_E was lower in the middle-aged group ($p = 0.006$) and remained significant after adjustment on circumferential wall stress ($p = 0.004$). This suggests that the lower circumferential wall stress observed in the middle-aged group, fully explains the lower W_E but only partially explains the lower absolute and relative viscosity.

Effect of aging on the impact of HR reduction on cardiovascular parameters.

Exploratory analyses were performed concerning the effect of age on treatment response. Middle-aged volunteers exhibited a significantly higher increase in W_V under ivabradine versus placebo, compared to young subjects ($p = 0.03$). Conversely, W_E increased similarly in the two groups ($p = 0.41$) (Figure 2A and 2B). Thus, ivabradine was associated with an increase in relative viscosity W_V/W_E in the middle-aged group but not in the young group ($p = 0.022$) (Figure 2C).

In addition, aging did not modify the effect of ivabradine compared to placebo on all other parameters (data not shown)

DISCUSSION

This study demonstrates for the first time in healthy human that HR reduction increases energy dissipation in the carotid artery wall. However, this increase is proportional to the increase in elastic energy stored by the wall during cardiac cycle, resulting in a stable relative viscosity suggesting an adaptative response. Aging seems to be associated with a partial loss of this adaptation, the energy dissipation being more pronounced than expected from the energy stored, resulting in an increase in relative viscosity in the middle-aged group.

The present study was performed in healthy volunteers at the level of the carotid artery to assess in vivo the physiological role of HR in the regulation of the viscous behavior of conduit arteries. We chose the common carotid artery because it is the reflect of large conductance arteries including aorta. Moreover, this highly compliant artery is known to undergo significant decrease in their elastic properties with aging.^{30,36}

Viscous behavior of the carotid artery was evaluated by measuring the hysteresis loop of the P-LCSA relationship obtained using validated high-resolution echotracking method and tonometry.^{29,31,32,34} Continuous measurements of local pressure and diameter were performed simultaneously at the same level of each carotid and at the same acquisition frequency, allowing for direct synchronization of waveforms without need for post procedure treatment, unlike most non-invasive studies about AWW in human.^{37,38} The effect of the tonometer tip pressure on the contralateral diameter measurement had already been checked in a previous study and was considered insignificant, as was the side of the measurement.²⁹

This method allows the evaluation of energy exchanged within the wall, as previously described, and the expression of the viscous behavior as the absolute value of energy dissipation and related to the elastic energy stored. Thus, it permits to evaluate carotid AWW, in a thermodynamic point of view and considering one of its major determinants.^{15,16}

We performed a randomized, placebo-controlled, double-blind, cross-over study to administrate ivabradine allowing the assessment of HR reduction on carotid arterial mechanics and AWW with a robust design. The duration of wash-out period (14 days) was sufficient as demonstrated by the absence of difference between baseline values before treatments administration. The dosage of the treatment permit to obtained a 10-bpm decrease of HR as observed in previous study.²⁰ The 8-days repeated administration procedure allowed to reach the steady-state concentration of ivabradine. Moreover, this relatively short exposure time to treatment eliminates the possibility of structural changes secondary to HR reduction, which was not the focus of the study.

In addition, ivabradine has a highly specific chronotropic effect without inotropic effect, confirmed in our study by the stability of our indicators of cardiac contractility.³⁹ Thus, contrary to studies using betablockers, it permits to evaluate only the effect of HR reduction on artery wall mechanics.^{40,41} In these conditions, we performed a comprehensive assessment of the carotid, cardiac and systemic hemodynamics and the carotid mechanics to interpret the effect of HR reduction on carotid AWW and cardiovascular coupling.

Considering our study population, we successfully selected healthy volunteers with a relative high HR allowing to specifically assess the physiological role of HR in the regulation of the AWW and the potential recipients of HR reduction. Moreover, to answer to our prespecified objective of the effect of aging, we included both young and middle-aged volunteers.

In this context, HR reduction was responsible for an increase in SV and in EDV directly related to the increase in diastolic duration time and cardiac preload. In the same time, the absence of change in ESV, CO, EF and Ees confirms the absence of negative inotropic effect of ivabradine. In parallel no change in peripheral blood pressure was observed. These effects are in accordance with previous studies performed in healthy subjects and in coronary artery disease patients.^{33,39,42}

In parallel, AP and AIX increased, confirming the unfavorable effect of bradycardic agent on central hemodynamics.^{22,23,25} Thus, as observed in the present study, the longer systolic ejection time increases the likelihood that the arterial wave reflection returns to the proximal aorta relatively earlier in the systole explaining the AP increase.^{23,43} This mechanism is supported by the stable AIX₇₅, suggesting more a direct HR effect than change in reflected wave amplitude. However, there was non-significant increase in cSBP and decrease in cDBP but a trend to increase in cPP. The absence of a large increase in cSBP while AP increased could be explained by a non-significant decrease in the cDBP secondary to the lengthening of the diastolic period. This absence of effect on central blood pressure has already been reported in coronary artery disease patients, for short time exposure to ivabradine, whereas a decrease in AIX₇₅ and an increase in cSBP was observed after long-time treatment, suggesting structural effects.^{25,33}

This unfavorable cardiovascular coupling, that should be accompanied by a decreased myocardial perfusion during proto-diastolic time, was compensated by an increase in the length of the coronary perfusion in diastole as demonstrated by a higher Buckberg index with ivabradine.³³

Concerning arterial stiffness, no significant change was observed in the cfPWV. In fact, this could be due to a lack of power of our study for this parameter, the change in cfPWV with HR changes is low resulting in conflicting results.^{4,5} Thus, a 10-bpm increase in HR seems to be

responsible for a 0.17 m/s increase in cfPWV, near to that we observed.⁴ Moreover, time to change cfPWV is often observed for more prolonged duration of treatment.^{25,44}

In contrast, at the level of the carotid artery, compliance and distensibility increased and E_{inc} decreased, after taking into account the circumferential wall stress, confirming the decrease in arterial stiffness secondary to HR reduction. Even suggested previously,^{6,7,25,27} this is, to our knowledge, the first demonstration that a selective HR-reduction rapidly decreases local arterial stiffness in human suggesting non-structural effect. This could be related to change in arterial tone. In fact, HR reduction tended to increase carotid systolic blood velocity and thus sWSS whereas mean values were stable. These changes could impact arterial wall mechanics by the release of endothelial relaxing factors.¹⁹

In this context, W_E dramatically increased under ivabradine mainly due to the increased distension, reflecting the increase in the elastic energy stored within the arterial wall. In parallel, W_V significantly increased, reflecting the increase in energy dissipation. Thus, this results in a stable relative viscosity. This suggests that the increase in W_V is more an adaptative process to the increase in elastic energy stored than a direct effect of HR reduction on the viscous component of the carotid mechanics. This argues for a “smart damping” of the energy stored by the system as previously proposed by some authors.³⁷ Although frequently evoked as the cause of the increase in arterial stiffness during HR increase,^{5,8-10} no study has evaluated the AWW using the thermodynamic approach at the level of carotid artery in human. However, one in vivo study used a thermodynamic approach of AWW to evaluate the effect of acute administration of ivabradine on carotid AWW in normotensives rats.⁹ The authors found, in accordance with our results, an increase in arterial distension, W_E and W_V . However, there was a larger increase in W_V resulting in an increase in relative viscosity. These differences could be related to the acute administration of ivabradine in rats that was associated with a large increase in pulse pressure or that could result in insufficient time for the arterial wall to adapt to these new hemodynamical conditions.⁹

In addition, some in vitro and animal studies assessed the effect of HR modulation on AWW with different approaches. These studies evaluated the viscous component of arteries by the viscous coefficient η , representing the intrinsic viscosity of the material and obtained with frequency^{11,14} or time-domain analysis.^{17,45} In fact, η is not equivalent to W_V which corresponds to the dissipated energy related to both intrinsic viscosity and arterial working conditions. With these methods, the authors demonstrated a decrease in η when HR increase.^{11-14,45} Thus, our

results and these studies, despite different methods, show concordant results concerning the effect of HR.

Furthermore, we performed an exploratory analysis, prespecified at the start of the study, to evaluate the impact of aging on this regulation. At baseline, despite similar peripheral blood pressure, middle-aged volunteers had a less favorable cardiovascular coupling, as shown by the increased AP and AIx and the decrease in the c-b amplification. As previously described, we observed that the increase in pressure wave reflection is related to both an increase in cfPWV secondary to the aortic stiffening and an increase in the magnitude of the reflected pulse wave suggesting by the increase in TPR with aging.⁴⁶ Moreover, carotid IMT increased with aging without significant increase in diameter, resulting in a decrease in circumferential wall stress. This result had already been observed in healthy middle-aged population,^{34,38} although advanced aging is classically associated with an increase in carotid diameter, particularly in men.³⁶ In this context, DC was lower and Einc was higher in middle-aged group confirming the stiffening of large arteries with aging.^{30,36} As previously stressed, carotid hemodynamic was also altered with aging, particularly the systolic values of the blood velocity and wall shear stress were lower and may have contributed to a decrease in endothelial stimulation with aging.⁴⁷

In this context, W_v , but not W_e , was lower in the middle-aged group, resulting in a lower relative viscosity. The stable W_e could be explained by the decrease in pulse diameter and a non-significant increase in cPP. Few studies evaluated the impact of aging on AWW. In a typical result figure, Giannattasio et al. showed a smaller hysteresis loop in aging people but did not measure the area.⁴⁸ However, this was in accordance with a previous in vitro study.⁴⁹ Using time-domain assessment of η , Kawano et al. found an increase in AWW but only in unfit middle-aged people.³⁸ However, in this study, bMBP increased with aging suggesting a higher circumferential wall stress, a major determinant of AWW.¹⁶ In fact, we observed that the lower W_v and relative viscosity was only partially related to the decrease in circumferential wall stress in the middle-aged group, suggesting changes in intrinsic viscosity of the arteries with aging. This may be due to structural changes, such as a reduced vascular muscular cell content and replacement by less viscous elements such as extracellular matrix components.⁴⁹

Finally, we demonstrated differences in AWW response to HR reduction according to the age group. Thus, contrary to the young group, the middle-aged volunteers exhibited an increase in W_v , explaining the observed increase in W_v in the overall population. Conversely, young and middle-aged volunteers similarly increased their W_e . As a consequence, middle-aged subjects significantly increased their relative viscosity compared to young subjects. This suggests that,

contrary to young, middle-aged population loses their adaptative regulation of AWW to HR reduction resulting in more energy dissipation than expected by the elastic energy stored within the arterial wall. A hypothesis to explain this adaptative loss is a lesser release of endothelial-relaxing factors secondary to age-related endothelial dysfunction despite a similar increase in wall shear stress during HR reduction.¹⁹ This increased energy dissipation secondary to endothelial dysfunction could contribute to the less benefit of HR reduction in aging.²⁶

In conclusion, this study demonstrates for the first time in healthy human that an adaptative increase in energy dissipation occurs in healthy human during HR reduction with ivabradine to compensate the increases in the energy stored within the arterial wall. Aging is associated with the loss of this adaptative process resulting in a larger increase in energy dissipation. This should be considered when evaluating the effect of HR reduction in pathological situation.

REFERENCES

1. Custodis F, Schirmer SH, Baumhäkel M, Heusch G, Böhm M, Laufs U. Vascular pathophysiology in response to increased heart rate. *J Am Coll Cardiol*. 2010;56:1973–1983.
2. Laurent S, Cockcroft J, Van Bortel L, Boutouyrie P, Giannattasio C, Hayoz D, Pannier B, Vlachopoulos C, Wilkinson I, Struijker-Boudier H, European Network for Non-invasive Investigation of Large Arteries. Expert consensus document on arterial stiffness: methodological issues and clinical applications. *Eur Heart J*. 2006;27:2588–2605.
3. The Reference Values for Arterial Stiffness' TRV for AS. Determinants of pulse wave velocity in healthy people and in the presence of cardiovascular risk factors: 'establishing normal and reference values.' *Eur Heart J*. 2010;31:2338–2350.
4. Tan I, Spronck B, Kiat H, Barin E, Reesink KD, Delhaas T, Avolio AP, Butlin M. Heart Rate Dependency of Large Artery Stiffness. *Hypertens Dallas Tex 1979*. 2016;68:236–242.
5. Lantelme P, Mestre C, Lievre M, Gressard A, Milon H. Heart rate: an important confounder of pulse wave velocity assessment. *Hypertension*. 2002;39:1083–1087.
6. Giannattasio C, Vincenti A, Failla M, Capra A, Cirò A, De Ceglia S, Gentile G, Brambilla R, Mancia G. Effects of heart rate changes on arterial distensibility in humans. *Hypertension*. 2003;42:253–256.
7. Mircoli L, Mangoni AA, Giannattasio C, Mancia G, Ferrari AU. Heart rate-dependent stiffening of large arteries in intact and sympathectomized rats. *Hypertension*. 1999;34:598–602.
8. Mangoni AA, Mircoli L, Giannattasio C, Ferrari AU, Mancia G. Heart rate-dependence of arterial distensibility in vivo. *J Hypertens*. 1996;14:897–901.
9. Albaladejo P, Challande P, Kakou A, Benetos A, Labat C, Louis H, Safar ME, Lacolley P. Selective reduction of heart rate by ivabradine: effect on the visco-elastic arterial properties in rats. *J Hypertens*. 2004;22:1739–1745.
10. Antonov P, Antonova M, Nikolova N, Antonova N, Vlaskovska M, Kasakov L. Age dependent changes of arterial wall viscoelasticity. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2008;39:63–68.
11. Gow BS, Schonfeld D, Patel DJ. The dynamic elastic properties of the canine left circumflex coronary artery. *J Biomech*. 1974;7:389–395.
12. Salvucci FP, Schiavone J, Craiem D, Barra JG. Arterial wall mechanics as a function of heart rate: role of vascular smooth muscle. *J Phys Conf Ser*. 2007;90:012010.
13. Busse R, Bauer RD, Sattler T, Schabert A. Dependence of elastic and viscous properties of elastic arteries on circumferential wall stress at two different smooth muscle tones. *Pflug Arch Eur J Physiol*. 1981;390:113–119.
14. Bergel DH. The dynamic elastic properties of the arterial wall. *J Physiol*. 1961;156:458–469.
15. Boutouyrie P, Bèzie Y, Lacolley P, Challande P, Chamiot-Clerc P, Benetos A, de la Faverie JF, Safar M, Laurent S. In vivo/in vitro comparison of rat abdominal aorta wall viscosity. Influence of endothelial function. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1997;17:1346–1355.
16. Roca F, Iacob M, Remy-Jouet I, Bellien J, Joannides R. Evidence for a Role of Vascular Endothelium in the Control of Arterial Wall Viscosity in Humans. *Hypertens Dallas Tex 1979*. 2018;71:143–150.
17. Armentano RL, Barra JG, Levenson J, Simon A, Pichel RH. Arterial wall mechanics in conscious dogs. Assessment of viscous, inertial, and elastic moduli to characterize aortic wall behavior. *Circ Res*. 1995;76:468–478.
18. Himburg HA, Dowd SE, Friedman MH. Frequency-dependent response of the vascular endothelium to pulsatile shear stress. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2007;293:H645-653.
19. Roca F, Bellien J, Iacob M, Joannides R. Endothelium-dependent adaptation of arterial wall viscosity during blood flow increase is impaired in essential hypertension. *Atherosclerosis*.

2019;285:102–107.

20. Fox K, Ford I, Steg PG, Tardif J-C, Tendera M, Ferrari R, SIGNIFY Investigators. Ivabradine in stable coronary artery disease without clinical heart failure. *N Engl J Med*. 2014;371:1091–1099.
21. Reil J-C, Tardif J-C, Ford I, Lloyd SM, O’Meara E, Komajda M, Borer JS, Tavazzi L, Swedberg K, Böhm M. Selective heart rate reduction with ivabradine unloads the left ventricle in heart failure patients. *J Am Coll Cardiol*. 2013;62:1977–1985.
22. Messerli FH, Rimoldi SF, Bangalore S, Bavishi C, Laurent S. When an Increase in Central Systolic Pressure Overrides the Benefits of Heart Rate Lowering. *J Am Coll Cardiol*. 2016;68:754–762.
23. Williams B, Lacy PS, Thom SM, Cruickshank K, Stanton A, Collier D, Hughes AD, Thurston H, O’Rourke M, CAFE Investigators, Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial Investigators, CAFE Steering Committee and Writing Committee. Differential impact of blood pressure-lowering drugs on central aortic pressure and clinical outcomes: principal results of the Conduit Artery Function Evaluation (CAFE) study. *Circulation*. 2006;113:1213–1225.
24. Bonadei I, Sciatti E, Vizzardi E, Fabbriatore D, Pagnoni M, Rossi L, Carubelli V, Lombardi CM, Metra M. Effects of ivabradine on endothelial function, aortic properties and ventricular-arterial coupling in chronic systolic heart failure patients. *Cardiovasc Ther*. 2018;36:e12323.
25. Hohneck AL, Fries P, Ströder J, Schneider G, Wagenpfeil S, Schirmer SH, Böhm M, Laufs U, Custodis F. Effects of heart rate reduction with ivabradine on vascular stiffness and endothelial function in chronic stable coronary artery disease. *J Hypertens*. 2019;37:1023–1031.
26. Khan N, McAlister FA. Re-examining the efficacy of β -blockers for the treatment of hypertension: a meta-analysis. *CMAJ Can Med Assoc J*. 2006;174:1737–1742.
27. Boutouyrie P, Beaussier H, Achouba A, Laurent S, EXPLOR trialists. Destiffening effect of valsartan and atenolol: influence of heart rate and blood pressure. *J Hypertens*. 2014;32:108–114.
28. Boutouyrie P, Boumaza S, Challande P, Lacolley P, Laurent S. Smooth muscle tone and arterial wall viscosity: an in vivo/in vitro study. *Hypertension*. 1998;32:360–364.
29. Laurent S, Girerd X, Mourad JJ, Lacolley P, Beck L, Boutouyrie P, Mignot JP, Safar M. Elastic modulus of the radial artery wall material is not increased in patients with essential hypertension. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1994;14:1223–1231.
30. Benetos A, Laurent S, Hoeks AP, Boutouyrie PH, Safar ME. Arterial alterations with aging and high blood pressure. A noninvasive study of carotid and femoral arteries. *Arterioscler Thromb J Vasc Biol Am Heart Assoc*. 1993;13:90–97.
31. Maltete D, Bellien J, Cabrejo L, Iacob M, Proust F, Mihout B, Thuillez C, Guegan-Massardier E, Joannides R. Hypertrophic remodeling and increased arterial stiffness in patients with intracranial aneurysms. *Atherosclerosis*. 2010;211:486–491.
32. Meinders JM, Hoeks APG. Simultaneous assessment of diameter and pressure waveforms in the carotid artery. *Ultrasound Med Biol*. 2004;30:147–154.
33. Dillinger J-G, Maher V, Vitale C, Henry P, Logeart D, Silberman SM, Allée G, Levy BI. Impact of Ivabradine on Central Aortic Blood Pressure and Myocardial Perfusion in Patients With Stable Coronary Artery Disease. *Hypertension*. 2015;HYPERTENSIONAHA.115.06091.
34. Bussy C, Boutouyrie P, Lacolley P, Challande P, Laurent S. Intrinsic Stiffness of the Carotid Arterial Wall Material in Essential Hypertensives. *Hypertension*. 2000;35:1049–1054.
35. Bour J, Kellett J. Impedance cardiography: a rapid and cost-effective screening tool for cardiac disease. *Eur J Intern Med*. 2008;19:399–405.
36. Hansen F, Mangell P, Sonesson B, Länne T. Diameter and compliance in the human common carotid artery — variations with age and sex. *Ultrasound Med Biol*. 1995;21:1–9.

37. Armentano RL, Barra JG, Santana DB, Pessana FM, Graf S, Craiem D, Brandani LM, Baglivo HP, Sanchez RA. Smart damping modulation of carotid wall energetics in human hypertension: effects of angiotensin-converting enzyme inhibition. *Hypertension*. 2006;47:384–390.
38. Kawano H, Yamamoto K, Gando Y, Tanimoto M, Murakami H, Ohmori Y, Sanada K, Tabata I, Higuchi M, Miyachi M. Lack of age-related increase in carotid artery wall viscosity in cardiorespiratory fit men. *J Hypertens*. 2013;31:2370–2379.
39. Savelieva I, Camm AJ. Heart Rate Slowing by If Current Inhibition [Internet]. Basel: Karger; 2006 [cited 2015 Jun 15]. Available from: <http://www.karger.com/doi/10.1159/000095430>
40. Ariff B, Zambanini A, Vamadeva S, Barratt D, Xu Y, Sever P, Stanton A, Hughes A, Thom S. Candesartan- and atenolol-based treatments induce different patterns of carotid artery and left ventricular remodeling in hypertension. *Stroke J Cereb Circ*. 2006;37:2381–2384.
41. Mahmud A, Feely J. Beta-blockers reduce aortic stiffness in hypertension but nebivolol, not atenolol, reduces wave reflection. *Am J Hypertens*. 2008;21:663–667.
42. Joannides R, Moore N, Iacob M, Compagnon P, Lerebours G, Menard J-F, Thuillez C. Comparative effects of ivabradine, a selective heart rate-lowering agent, and propranolol on systemic and cardiac haemodynamics at rest and during exercise. *Br J Clin Pharmacol*. 2006;61:127–137.
43. Wilkinson IB, Mohammad NH, Tyrrell S, Hall IR, Webb DJ, Paul VE, Levy T, Cockcroft JR. Heart rate dependency of pulse pressure amplification and arterial stiffness. *Am J Hypertens*. 2002;15:24–30.
44. Ait-Oufella H, Collin C, Bozec E, Laloux B, Ong K-T, Dufouil C, Boutouyrie P, Laurent S. Long-term reduction in aortic stiffness: a 5.3-year follow-up in routine clinical practice. *J Hypertens*. 2010;28:2336–2341.
45. Bauer RD, Busse R, Schabert A, Summa Y, Wetterer E. Separate determination of the pulsatile elastic and viscous forces developed in the arterial wall in vivo. *Pflug Arch Eur J Physiol*. 1979;380:221–226.
46. Avolio A. Ageing and wave reflection. *J Hypertens Suppl Off J Int Soc Hypertens*. 1992;10:S83-86.
47. Hirata K, Yaginuma T, O'Rourke MF, Kawakami M. Age-related changes in carotid artery flow and pressure pulses: possible implications for cerebral microvascular disease. *Stroke J Cereb Circ*. 2006;37:2552–2556.
48. Giannattasio C, Salvi P, Valbusa F, Kearney-Schwartz A, Capra A, Amigoni M, Failla M, Boffi L, Madotto F, Benetos A, Mancia G. Simultaneous measurement of beat-to-beat carotid diameter and pressure changes to assess arterial mechanical properties. *Hypertension*. 2008;52:896–902.
49. Dobrin PB. Mechanical properties of arteries. *Physiol Rev*. 1978;58:397–460.

Table 1. Baseline characteristics of included volunteers at V0 (before randomization)

	Total (n = 20)
Female, n (%)	14 (70)
Age, years	43.7 ± 12
Smoking habits, n (%)	
• Past smoking	5 (25)
• No smoking	15 (75)
Body Mass Index, kg/m ²	23.5 ± 2.9
Leukocytes, G/L	5.8 ± 1.4
Hemoglobin, g/dL	14 ± 1.2
Hematocrit, %	41.0 ± 3.5
Platelets, G/L	244 ± 52
Aspartate transaminase, IU/L	22 ± 8
Alanine transaminase, IU/L	24 ± 14
Alkaline phosphatase, IU/L	58 ± 25
Fasting blood glucose, g/L	0.9 ± 0.1
Creatinine, μmol/L	72 ± 14
Total cholesterol, g/L	2 ± 0.3
Triglycerids, g/L	0.9 ± 0.4
HDL-cholesterol, g/L	0.7 ± 0.2
LDL-cholesterol, g/L	1.1 ± 0.2
Total blood viscosity, cP	4.3 ± 0.8

Data are presented as mean ± SD unless indicated otherwise.

Table 2. Effect of ivabradine versus placebo on brachial and central pressure and systemic and cardiac hemodynamics

	Baseline	Delta Ivabradine	Delta Placebo	<i>p</i>
Heart rate (ECG), bpm	71 ± 7	-10 ± 7	-2 ± 5	<0.001
bSBP, mmHg	117 ± 9	0 ± 6	-2 ± 5	0.216
bDBP, mmHg	71 ± 6	-1 ± 4	-2 ± 4	0.901
bMBP, mmHg	87 ± 7	-1 ± 4	-2 ± 5	0.682
bPP, mmHg	46 ± 7.7	1 ± 4	0 ± 3	0.118
Cyclic stretch, mmHg.bpm	3408 ± 774	-423 ± 504	-150 ± 344	0.001
cSBP, mmHg	106 ± 9	1 ± 7	-2 ± 5	0.127
cDBP, mmHg	72 ± 7	-2 ± 4	-2 ± 4	0.899
cMBP, mmHg	87 ± 7	-1 ± 4	-2 ± 4	0.549
cPP, mmHg	35 ± 6	2 ± 5	0 ± 3	0.076
c-b amplification, unitless	1.3 ± 0.2	-0.04 ± 0.1	-0.02 ± 0.1	0.581
Stroke volume, 10 ⁻³ L	90 ± 10	10 ± 10	0 ± 7	<0.001
End-diastolic volume, 10 ⁻³ L	139 ± 22	12 ± 15	1 ± 13	0.001
End-systolic volume, 10 ⁻³ L	49 ± 19	2 ± 8	2 ± 11	0.843
Cardiac output, L/min	6 ± 1.1	-0.2 ± 0.4	-0.2 ± 0.5	0.674
Ejection fraction, %	65 ± 9	1 ± 3	-1 ± 4	0.142
TPR, mmHg/L/min	14.8 ± 2.3	0.3 ± 1.1	0.3 ± 1.1	0.947
Ees, mmHg/10 ⁻³ L	2.1 ± 0.8	-0.1 ± 0.2	-0.1 ± 0.4	0.539

Data are presented as mean ± SD. bSBP/MBP/DBP/PP: brachial Systolic/Mean/Diastolic/Pulse blood pressure, cSBP/MBP/DBP/PP: central Systolic/Mean/Diastolic/Pulse blood pressure, c-b amplification: carotid to brachial amplification, cfPWV: Carotid to femoral pulse wave velocity, Ees: Left ventricular end-systolic elastance, TPR: Total peripheral resistance.

Table 3. Effect of ivabradine versus placebo on pressure wave, cardiovascular coupling and carotid hemodynamics

	Baseline	Delta Ivabradine	Delta Placebo	<i>p</i>
Period, ms	945 ± 119	125 ± 86	24 ± 96	<0.001
Ejection duration, ms	320 ± 18	12 ± 11	3 ± 11	<0.001
Ejection duration/Period, %	34 ± 4	-3 ± 2	-1 ± 3	<0.001
Reflexion time, ms	158 ± 32	-6 ± 29	7 ± 20	0.054
P1 height, mmHg	30 ± 6	2 ± 5	1 ± 3	0.333
AP, mmHg	3 ± 7	1 ± 3	-1 ± 3	0.011
AIx, %	6.9 ± 18.8	1.8 ± 6.5	-1.8 ± 7.3	0.045
AIx75, %	1.8 ± 17.7	-1.9 ± 5.9	-2.7 ± 7	0.648
Buckberg index, %	161 ± 23	20 ± 17	4 ± 18	0.002
SPTI, mmHg.s/min	2015 ± 296	-169 ± 178	-85 ± 166	0.095
DPTI, mmHg.s/min	3194 ± 251	104 ± 205	-27 ± 201	0.014
cfPWV, m/s	7.3 ± 0.9	-0.2 ± 0.6	-0.1 ± 0.5	0.614
Mean blood velocity, cm/s	27.6 ± 4.3	-1.0 ± 3.8	-0.4 ± 3.3	0.426
Systolic blood velocity, cm/s	60.8 ± 11.9	1.4 ± 6.5	-0.4 ± 5.4	0.105
mWSS, Pa	0.87 ± 0.18	-0.01 ± 0.14	-0.002 ± 0.12	0.717
sWSS, Pa	1.93 ± 0.50	0.09 ± 0.24	0.01 ± 0.20	0.071

Data are presented as mean ± SD. All comparisons were non-significant. AIx: augmentation index, AIx75: augmentation index indexed on heart rate (75 bpm) AP: Augmentation pressure, cfPWV: Carotid to femoral pulse wave velocity, DPTI: central diastolic pressure time integral, mWSS: Mean wall shear stress, sWSS: Systolic wall shear stress, SPTI: central systolic pressure time integral.

Table 4. Effect of ivabradine versus placebo on carotid geometry, mechanics and arterial wall viscosity

	Baseline	Delta Ivabradine	Delta Placebo	<i>p</i>
Diastolic diameter, mm	5.548 ± 0.520	-0.086 ± 0.262	-0.07 ± 0.195	0.742
Carotid distension, mm	0.583 ± 0.142	0.076 ± 0.041	0.007 ± 0.048	<0.001
IMT, μm	449 ± 101	5 ± 10	7 ± 13	0.601
Circumferential wall stress, kPa	78 ± 18	-3 ± 6	-4 ± 7	0.435
CC, 10 ⁻⁸ .m ² /kPa	122 ± 38	4 ± 15	-1 ± 15	0.113†
DC, 10 ⁻³ /kPa	51 ± 18	4 ± 8	1 ± 7	0.169*
Elastic modulus, kPa	252 ± 100	-24 ± 47	-16 ± 43	0.306‡

Data are presented as mean ± SD. †: *p* = 0.07, *: *p* = 0.04 and ‡: *p* = 0.05 after adjustment on circumferential wall stress. CC: cross-sectional compliance coefficient, DC: cross-sectional distensibility coefficient, IMT: intima-media thickness.

FIGURE LEGENDS

Figure 1: Percent changes of viscous energy dissipation (A, W_v), elastic energy stored at each cycle (B, W_E) and relative viscosity (C, W_v/W_E) after placebo or ivabradine.

Figure 2: Percent changes of viscous energy dissipation (A, W_v), elastic energy stored at each cycle (B, W_E) and relative viscosity (C, W_v/W_E) after placebo or ivabradine according to the age group. * $p < 0.05$ vs. baseline.

Figure 1

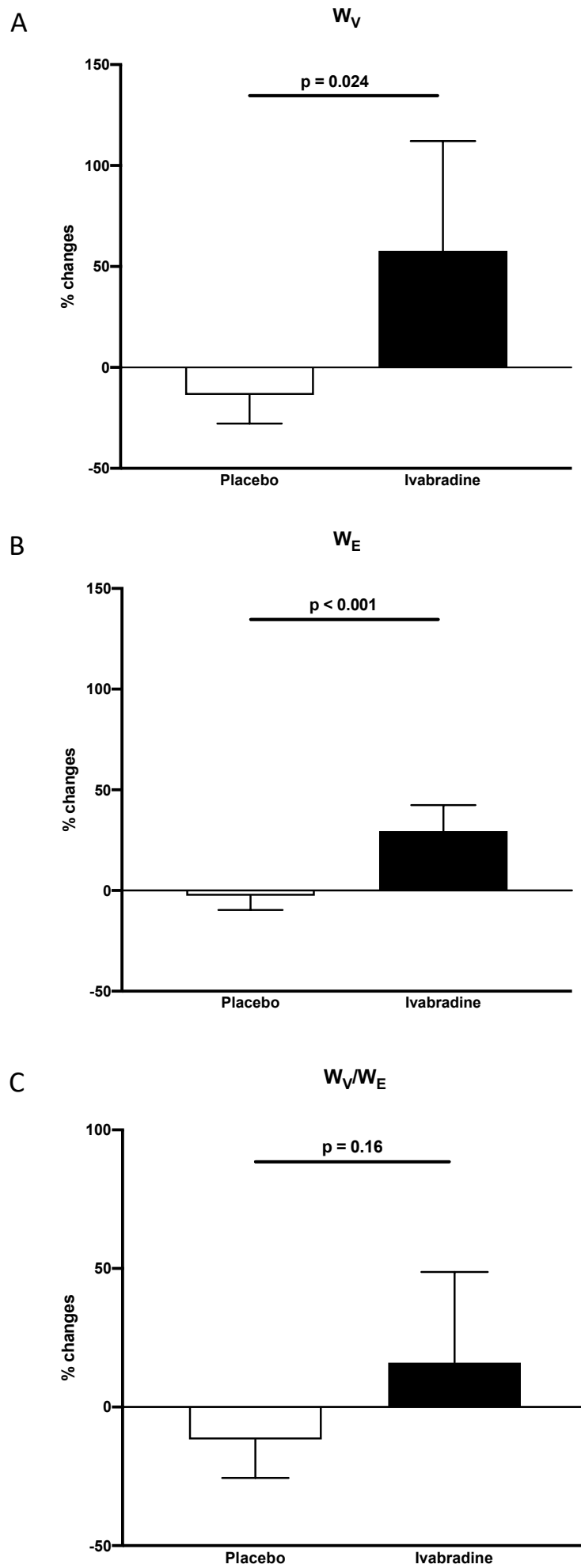
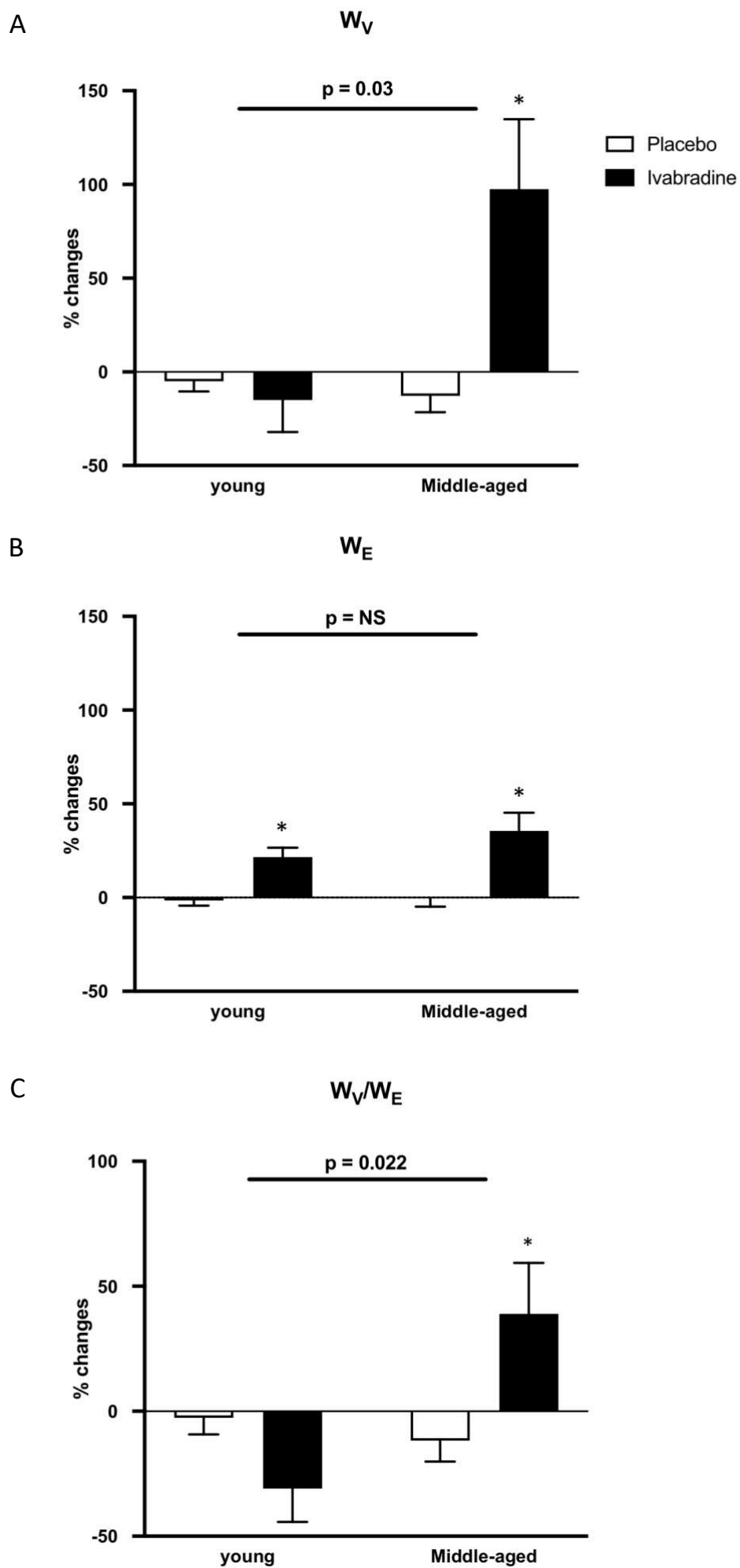


Figure 2



Supplementary table 1. Cardiovascular parameters at V1 and V3

	V1	V3
Heart rate (ECG), bpm	72 ± 8	71 ± 7
bSBP, mmHg	119 ± 9	116 ± 10
bDBP, mmHg	72 ± 6	70 ± 6
bMBP, mmHg	88 ± 6	86 ± 7
bPP, mmHg	46 ± 8	46 ± 8
Cyclic stretch, mmHg.bpm	3483 ± 801	3332 ± 758
cSBP, mmHg	107 ± 9	105 ± 9
cDBP, mmHg	73 ± 6	70 ± 6
cMBP, mmHg	88 ± 7	86 ± 7
cPP, mmHg	35 ± 6	35 ± 7
c-b amplification, unitless	1.4 ± 0.3	1.3 ± 0.2
Stroke volume, 10 ⁻³ L	90 ± 9	90 ± 10
End-diastolic volume, 10 ⁻³ L	137 ± 20	141 ± 23
End-systolic volume, 10 ⁻³ L	47 ± 18	52 ± 19
Cardiac output, L/min	6.2 ± 1.3	5.8 ± 0.9
Ejection fraction, %	67 ± 9	64 ± 9
TPR, mmHg/L/min	14.7 ± 2.7	14.9 ± 2.0
Ees, mmHg/10 ⁻³ L	2.28 ± 0.87	2.00 ± 0.70
Period, ms	921 ± 114	969 ± 118
Ejection duration, ms	317 ± 19	322 ± 16
Ejection duration/Period, %	35 ± 4	34 ± 3
Reflexion time, ms	158 ± 35	159 ± 29
P1 height, mmHg	30 ± 5	31 ± 7
AP, mmHg	2.9 ± 7.2	2.1 ± 6.9
AIx, %	7.9 ± 19.6	5.9 ± 17.9
AIx75, %	3.5 ± 18.3	0.1 ± 16.9
Buckberg index, %	157 ± 22	165 ± 24
SPTI, mmHg.s/min	2071 ± 294	1959 ± 287
DPTI, mmHg.s/min	3206 ± 255	3182 ± 247
cfPWV, m/s	7.3 ± 0.8	7.3 ± 0.9

Mean blood velocity, cm/s	27.8 ± 4.4	27.3 ± 4.1
Systolic blood velocity, cm/s	61.5 ± 11.9	60.1 ± 11.8
mWSS, Pa	0.87 ± 0.17	0.86 ± 0.19
sWSS, Pa	1.93 ± 0.47	1.92 ± 0.55
Internal diastolic diameter, mm	5.566 ± 0.557	5.530 ± 0.495
Carotid distension, mm	0.589 ± 0.143	0.578 ± 0.145
IMT, μ m	448 ± 102	450 ± 100
Circumferential wall stress, kPa	80 ± 19	76 ± 15
CC, 10^{-8} .m ² /kPa	123 ± 41	121 ± 35
DC, 10^{-3} /kPa	51 ± 18	51 ± 17
Elastic modulus, kPa	256 ± 98	249 ± 103
W _V , J.m ⁻¹	1.69 ± 0.95	1.79 ± 1.56
W _E , J.m ⁻¹	11.09 ± 4.50	11.05 ± 5.36
W _V /W _E , %	15.30 ± 7.40	16.38 ± 9.27

Data are presented as mean ± SD. All comparisons were non-significant. AIx: augmentation index, AIx75: augmentation index indexed on heart rate (75 bpm) AP: Augmentation pressure, bSBP/MBP/DBP/PP: brachial Systolic/Mean/Diastolic/Pulse blood pressure, cSBP/MBP/DBP/PP: central Systolic/Mean/Diastolic/Pulse blood pressure, c-b Amplification: carotid to brachial amplification, cfPWV: Carotid to femoral pulse wave velocity, CC: cross-sectional compliance coefficient, DC: cross-sectional distensibility coefficient, DPTI: central diastolic pressure time integral, Ees: Left ventricular end-systolic elastance, IMT: Intima-media thickness, mWSS: Mean wall shear stress, sWSS: Systolic wall shear stress, SPTI: central systolic pressure time integral, TPR: Total peripheral resistance, W_E: elastic energy stored at each cycle, W_V: viscous energy dissipation, W_V/W_E: relative viscosity.

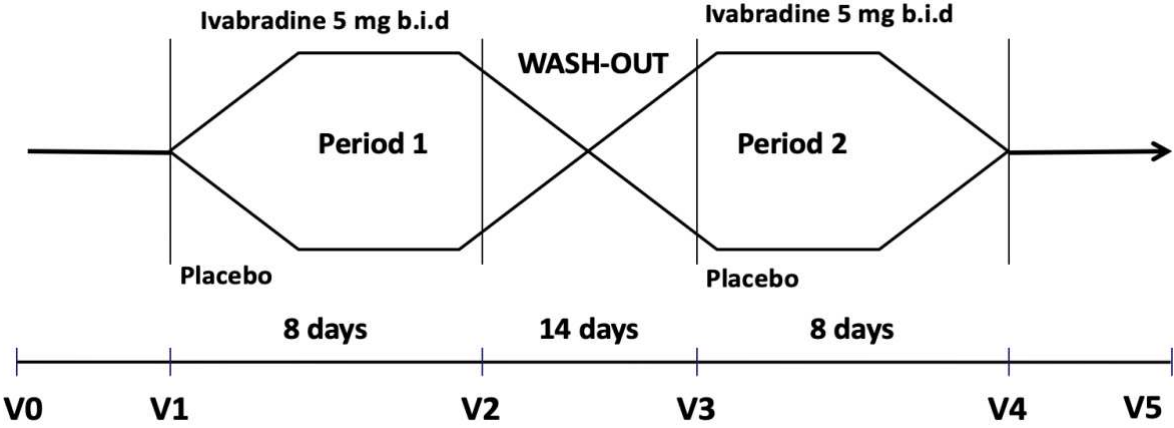
Supplementary table 2. Comparison of baseline cardiovascular parameters according to age group

Baseline parameters	Young group (n=8)	Middle-aged group (n=11)	<i>p</i>
Age, years	32.4 ± 5.6	53.4 ± 5	<0.0001
Poids, kg	66.6 ± 14.1	69.5 ± 10.8	0.615
Heart rate (ECG), bpm	73 ± 7	70 ± 5	0.244
bSBP, mmHg	118 ± 11	117 ± 7	0.682
bDBP, mmHg	71 ± 5	72 ± 7	0.754
bMBP, mmHg	87 ± 5	87 ± 7	0.901
bPP, mmHg	47 ± 10	45 ± 4	0.458
Cyclic stretch, mmHg.bpm	3703 ± 994	3193 ± 389	0.137
cSBP, mmHg	103 ± 6	108 ± 9	0.192
cDBP, mmHg	71 ± 5	72 ± 7	0.693
cMBP, mmHg	85 ± 4	88 ± 7	0.406
cPP, mmHg	32 ± 7	37 ± 5	0.15
c-b amplification, unitless	1.5 ± 0.2	1.2 ± 0.2	0.012
Stroke volume, 10 ⁻³ L	92 ± 7	88 ± 10	0.407
End-diastolic volume, 10 ⁻³ L	134 ± 21	143 ± 22	0.403
End-systolic volume, 10 ⁻³ L	43 ± 20	54 ± 16	0.167
Cardiac output, L/min	6.5 ± 1.2	5.6 ± 0.8	0.07
Ejection fraction, %	70 ± 9	62 ± 7	0.065
TPR, mmHg/L/min	13.6 ± 1.6	15.7 ± 2.2	0.039
Ees, mmHg/10 ⁻³ L	2.47 ± 0.92	1.89 ± 0.58	0.112
Period, ms	910 ± 102	971 ± 105	0.229
Ejection duration, ms	315 ± 16	324 ± 16	0.241
Ejection duration/Period, %	34.9 ± 3.1	33.6 ± 3	0.352
Reflexion time, ms	164 ± 16	154 ± 38	0.512
P1 height, mmHg	31 ± 8	30 ± 4	0.517
AP, mmHg	-2.7 ± 5.1	6.3 ± 5.4	0.002
Aix, %	-6.4 ± 14.7	16.7 ± 14.4	0.003
Aix75, %	-10.3 ± 12.5	10.6 ± 14.9	0.005

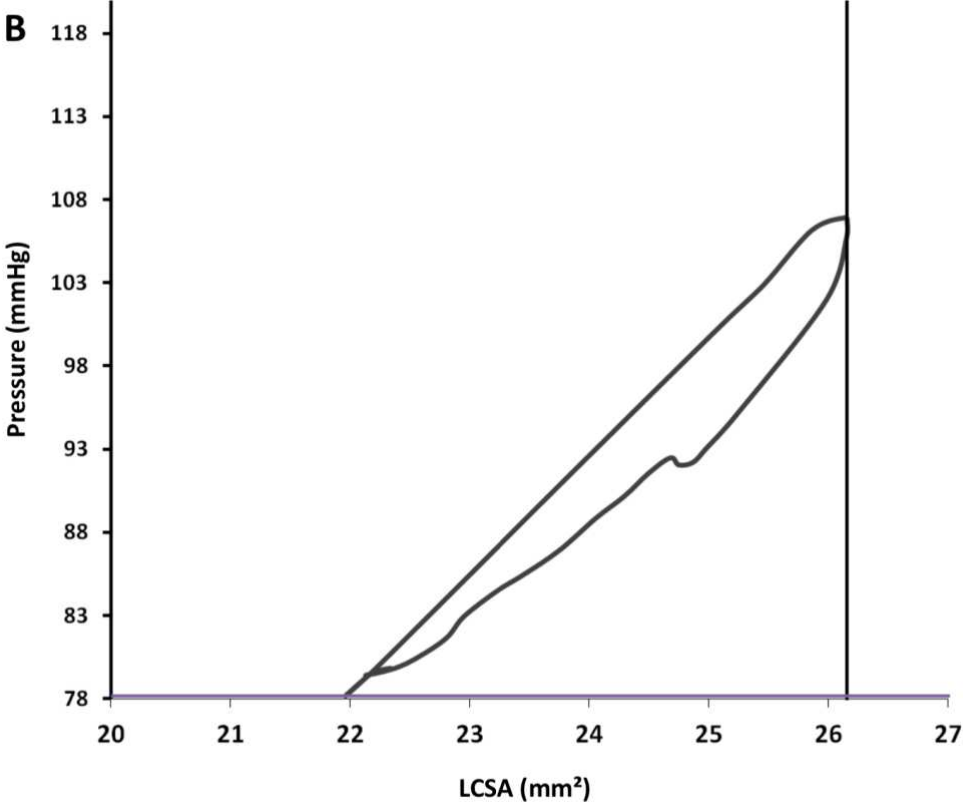
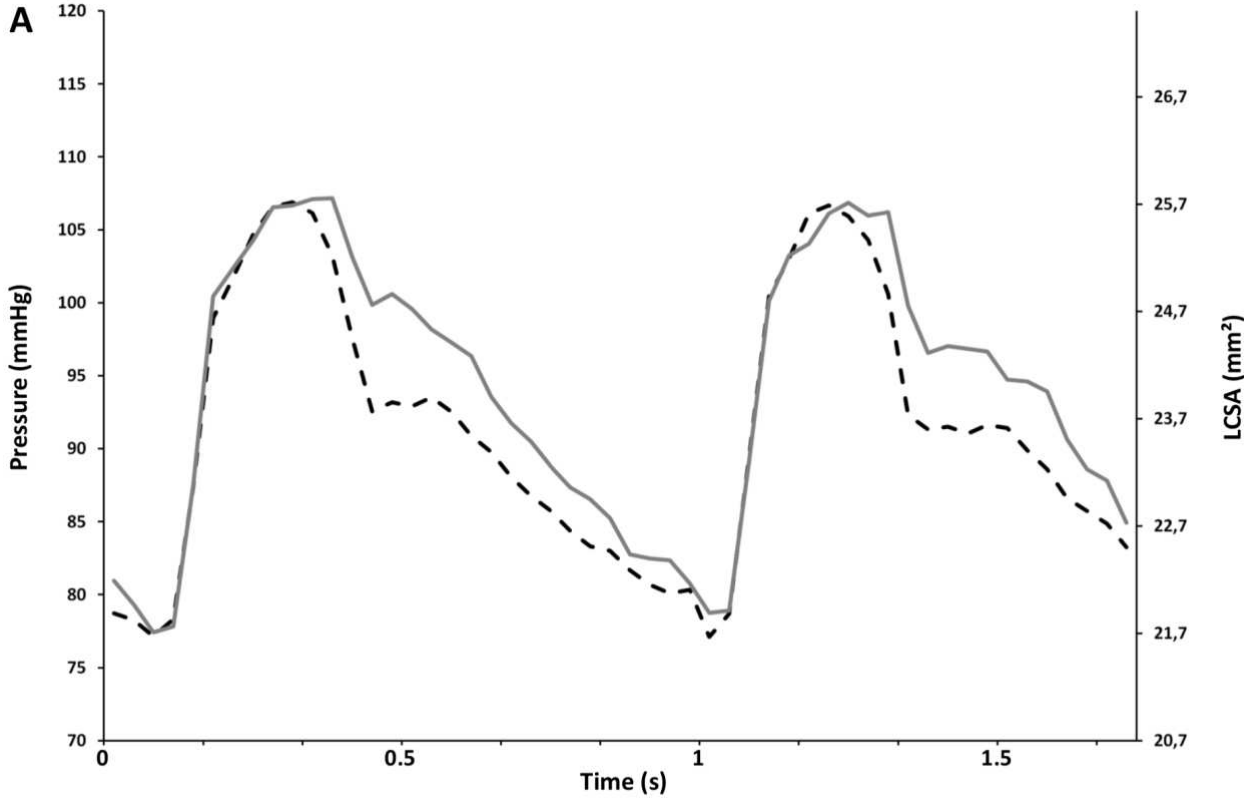
Buckberg index, %	158 ± 22	164 ± 20	0.551
SPTI, mmHg.s/min	2008 ± 271	2020 ± 286	0.93
DPTI, mmHg.s/min	3110 ± 142	3255 ± 242	0.15
cfPWV, m/s	6.7 ± 0.5	7.8 ± 0.7	0.001
Mean blood velocity, cm/s	29 ± 1.7	26.5 ± 4.1	0.124
Systolic blood velocity, cm/s	68.5 ± 8.5	55.2 ± 9.5	0.006
mWSS, Pa	0.91 ± 0.17	0.84 ± 0.16	0.341
sWSS, Pa	2.16 ± 0.49	1.76 ± 0.44	0.082
Internal diastolic diameter, mm	5.483 ± 0.536	5.595 ± 0.498	0.645
Carotid distension, mm	0.660 ± 0.146	0.527 ± 0.114	0.039
IMT, μm	371 ± 26	506 ± 97	0.001
Circumferential wall stress, kPa	90 ± 10	70 ± 15	0.004
CC, 10 ⁻⁸ .m ² /kPa	143 ± 26	107 ± 36	0.03
DC, 10 ⁻³ /kPa	62 ± 18	43 ± 10	0.009
Elastic modulus, kPa	226 ± 68	272 ± 106	0.3*
W _V , J.m ⁻¹	2.43 ± 1.31	1.25 ± 0.59	0.017†
W _E , J.m ⁻¹	12.8 ± 6.66	9.81 ± 2.56	0.189‡
W _V /W _E , %	18.8 ± 3.4	12.4 ± 4.9	0.006¶

Data are presented as mean ± SD. After adjustment on circumferential wall stress: *: p=0.028; †: p=0.132; ‡: p= 0.89; ¶: p = 0.004. AIx: augmentation index, AIx75: augmentation index indexed on heart rate (75 bpm) AP: Augmentation pressure, bSBP/MBP/DBP/PP: brachial Systolic/Mean/Diastolic/Pulse blood pressure, cSBP/MBP/DBP/PP: central Systolic/Mean/Diastolic/Pulse blood pressure, c-b Amplification: carotid to brachial amplification, cfPWV: Carotid to femoral pulse wave velocity, CC: cross-sectional compliance coefficient, DC: cross-sectional distensibility coefficient, DPTI: central diastolic pressure time integral, Ees: Left ventricular end-systolic elastance, IMT: Intima-media thickness, mWSS: Mean wall shear stress, sWSS: Systolic wall shear stress, SPTI: central systolic pressure time integral, TPR: Total peripheral resistance, W_E: elastic energy stored at each cycle, W_V: viscous energy dissipation, W_V/W_E: relative viscosity.

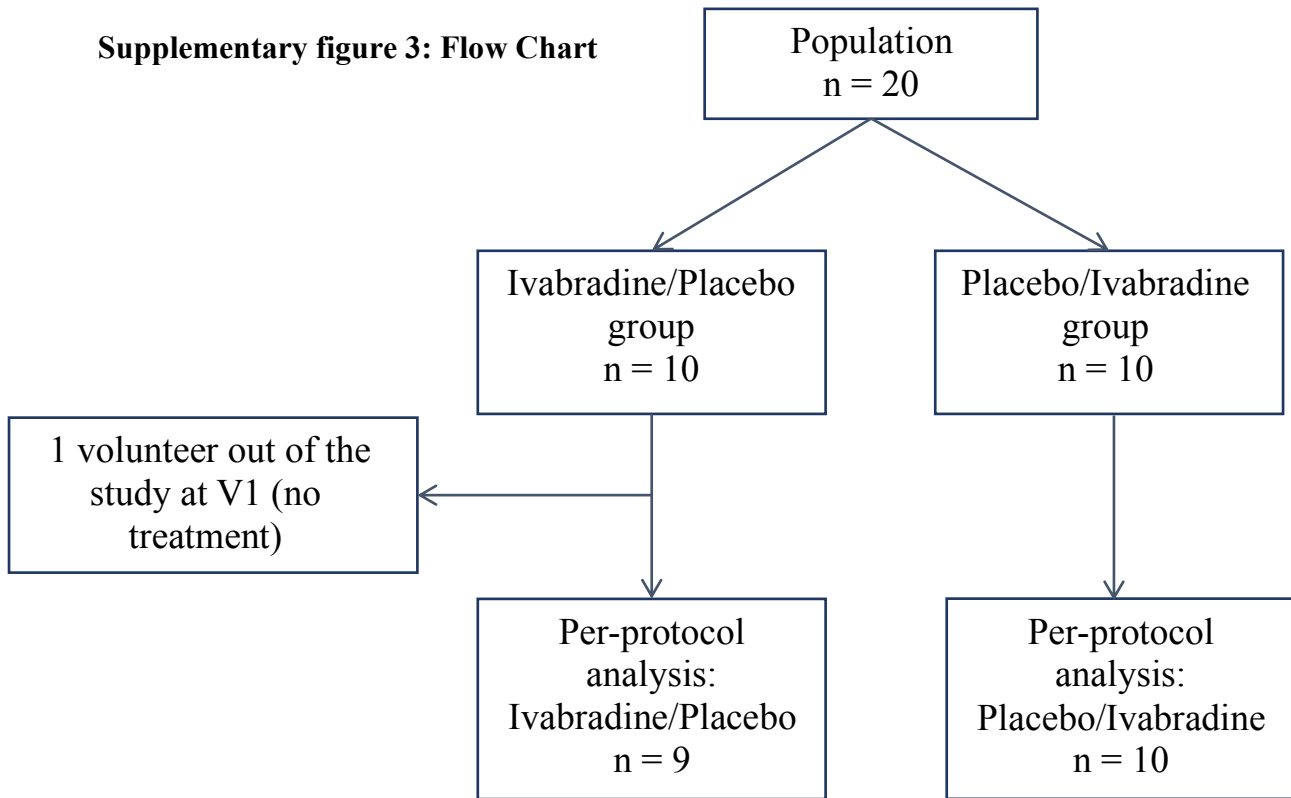
Supplementary figure 1: Study design



Supplementary figure 2: Typical pressure (black dashed line) and Lumen-cross sectional area (LCSA, grey line) waveforms (A) and resulting mean hysteresis loop (B)



Supplementary figure 3: Flow Chart



DISCUSSION GENERALE

Ce travail a montré pour la première fois chez l'homme que la VPA est régulée, au niveau de l'artère radiale, par le NO et les EETs endothéliaux, chez le sujet sain. Ces facteurs semblent agir par des mécanismes tonus-dépendants et indépendants. Au cours de l'HTA, on constate une augmentation de l'énergie dissipée parallèle à l'augmentation d'énergie emmagasinée dans la paroi, résultant en une viscosité relative stable à l'état basal. Cependant, dans cette population, ce mécanisme adaptatif est altéré lors de l'augmentation du flux. En effet, une augmentation de la viscosité absolue secondaire à la dysfonction endothéliale est démasquée lorsque l'endothélium est stimulé par l'élévation locale de la contrainte de cisaillement, aboutissant à une viscosité relative plus élevée. Au niveau carotidien, les sujets d'âge moyen indemnes de pathologie présentent des viscosités absolue et relative moindres que le sujet jeune à l'état basal. Dans ces populations, la réduction de la FC par l'ivabradine augmente la viscosité absolue parallèlement à l'augmentation de l'énergie élastique, aboutissant à une viscosité relative stable. Cependant, ce mécanisme adaptatif est altéré chez le sujet d'âge moyen, résultant en une augmentation majeure de la viscosité absolue sous ivabradine et donc en une augmentation de la viscosité relative. Ces éléments pourraient expliquer en partie la diminution du bénéfice cardiovasculaire observé en réponse à la bradycardie pharmacologique chez les patients plus âgés.

Dans ce travail nous avons évalué la VPA par deux méthodes, l'une au niveau carotidien et l'autre au niveau radial à partir de techniques d'écho-tracking vasculaire haute résolution et de tonométrie ou de pléthysmographie validés précédemment (Bellien et al., 2012b; Chowienczyk et al., 1999; Joannides et al., 1995b; Laurent et al., 1994; Meinders and Hoeks, 2004).

Ceci nous a permis d'obtenir des relations pression-diamètre ou pression-LCSA permettant une évaluation thermodynamique du phénomène visqueux. Ainsi la boucle d'hystérèse résultante représente la viscosité absolue et est le reflet de l'énergie dissipée par la paroi à chaque cycle. Rapportée à l'énergie emmagasinée, elle permet d'aborder la viscosité relative, est ainsi de caractériser la VPA en tenant compte de l'énergie élastique du système, l'un de ses principaux déterminants (Boutouyrie et al., 1997, 1998).

Cette approche présente de nombreux avantages en comparaison des autres approches proposées dans la littérature. Tout d'abord, elle permet de s'affranchir des problématiques liées

à la non-linéarité du comportement viscoélastique pour des amplitudes de variations de pression importante comme celles observées lors du cycle cardiaque au niveau des artères de conductance (Bauer et al., 1979; Fung, 1993; Gow et al., 1974; Lazan, 1968). Ainsi, elle est considérée comme l'approche la plus fiable et la plus adaptée du phénomène visqueux artériel par de nombreux auteurs (Boutouyrie et al., 1997; Tian et al., 2013). De plus, elle permet une évaluation directe de l'énergie dissipée en condition de travail ainsi qu'en fonction de l'énergie élastique stockée contrairement à d'autres méthodes basées sur la seule mesure du coefficient de viscosité η (Armentano et al., 1995a, 1995b). Enfin, contrairement aux approches évaluant l'angle de phase, elle peut être réalisée à la fois par une mesure simultanée de la pression et du diamètre, mais aussi par des mesures en deux sites différents (comme pour nous au niveau radial), voire successives sur le même site (Imura et al., 1990). Une étape de synchronisation des pieds d'onde est obligatoire dans ces deux derniers cas (Hoeks et al., 2000). Cela peut cependant permettre de s'affranchir d'une mesure bilatérale parfois difficile à réaliser sur certains sites ou dans certaines situations pathologiques.

Dans la première étude, nous avons mis en évidence, avec cette méthode, chez le volontaire sain jeune, une régulation par les facteurs endothéliaux de la VPA radiale. Cette artère de conductance musculaire est connue pour avoir une composante visqueuse et une régulation tonique importante (Joannides et al., 1995a, 1997, 2001). L'inhibition locale du NO ou des EETs a permis d'étudier spécifiquement le rôle des facteurs endothéliaux dans la régulation de la VPA sans effet systémique notamment sur la pression artérielle ou la FC, deux déterminants majeurs de la VPA (Bellien et al., 2006b, 2008b; Joannides et al., 1995b). Par ailleurs, l'absence d'effet systémique des inhibiteurs et l'étude précise de la mécanique artérielle nous a permis d'évaluer les effets des variations du tonus musculaire sur la VPA.

Dans ce contexte, nous avons montré que la VPA est régulée à l'état basal par les facteurs endothéliaux au niveau de l'artère radiale. En effet, l'inhibition de la synthèse de NO par le L-NMMA s'est accompagnée d'une diminution de W_V et de W_V/W_E dans un contexte de baisse du tonus musculaire lisse isométrique. Ce résultat, correspond à la libération en excès (« overshoot ») d'un autre facteur endothélial compensant la moindre disponibilité du NO. Ce phénomène de compensation avait déjà été décrit chez le sujet jeune, en retrouvant une amélioration des propriétés mécaniques artérielles sous L-NMMA (Bellien et al., 2006b; Joannides et al., 1995c). Cet « overshoot » est démasqué ici par l'administration concomitante de fluconazole qui, en inhibant les EETs, entraîne une augmentation du tonus musculaire lisse mais également de W_V et de W_V/W_E , démontrant la régulation synergique de ces deux

paramètres par le NO et les EETs. De même, l'administration d'un donneur de NO non-endothélium-dépendant (le SNP) diminue la viscosité relative confirmant ainsi le rôle du NO dans la régulation basale de la VPA. De plus, alors que l'administration isolée de fluconazole ne modifie pas la VPA, suggérant l'absence de rôle pour les EETs dans la régulation basale de la viscosité de paroi, le TEA induit une augmentation du tonus musculaire lisse mais également de W_V et de W_V/W_E . Ceci suggère que des facteurs hyperpolarisants autres que les EETs et ne dépendant pas du CYP450 régulent la VPA en agissant sur les canaux K_{Ca} vasculaires. L'augmentation majeure de W_V et de W_V/W_E sous L-NMMA et TEA confirme le caractère synergique du NO, des EETs, et de ces facteurs dans la régulation de la VPA.

Plusieurs mécanismes indirects peuvent être discutés. Tout d'abord, ces effets ne semblent pas passer par la modification du tonus des artères de résistance d'aval et donc de l'hémodynamique locale par les inhibiteurs endothéliaux. En effet, le L-NMMA, seul ou en combinaison, induit respectivement une diminution ou aucun changement de la contrainte de cisaillement pariétale, ne pouvant donc pas expliquer les modifications de tonus et de la VPA observés au niveau radial. Pour le fluconazole, dont l'administration est associée à une augmentation de la contrainte de cisaillement pariétale locale, nous ne pouvons pas exclure que l'augmentation de la VPA ait été limitée par une libération compensatrice de NO ou d'EETs sous l'effet de l'augmentation du flux (Bellien et al., 2006b). Par ailleurs, les modifications de VPA observées sont toujours concomitantes d'une modification du tonus allant dans le même sens, suggérant un rôle majeur du tonus musculaire lisse dans la régulation de ce paramètre. Ces résultats peuvent sembler discordants avec de précédentes études *in vitro* ne retrouvant pas d'effets des variations de tonus sur la VPA. Cependant, dans la première, la relation entre viscosité et tonus est constatée pour les niveaux les plus bas de contrainte pariétale qui correspondent aux niveaux physiologiques (Busse et al., 1981). Dans la seconde, l'utilisation de phényléphrine ou de SNP ayant de forts effets sur la géométrie artérielle et donc sur la contrainte pariétale, un des déterminants majeurs de la VPA, pourrait avoir masqué les effets toniques et expliquer l'apparente contradiction avec nos résultats (Boutouyrie et al., 1998). Enfin, la constatation de modifications semblables de W_V/W_E malgré une augmentation moindre du tonus musculaire lisse sous L-NMMA+fluconazole par rapport au TEA suggère que des mécanismes indépendants du tonus musculaire lisse mais passant par l'endothélium pourraient être impliqués. Des modifications de la perméabilité endothéliale pourraient être en cause mais cette hypothèse nécessite d'être évaluée (Alvarez et al., 2004; Durán et al., 2013).

Dans la seconde étude, nous avons utilisé le chauffage cutané distal et les inhibiteurs pharmacologiques de la synthèse des facteurs endothéliaux pour évaluer la régulation endothéliale de la VPA radiale en situation d'augmentation du flux, chez le normotendu et l'hypertendu d'âge moyen.

A l'état basal, nous avons observé, à contrainte pariétale équivalente, une viscosité absolue W_v plus élevée chez l'hypertendu. Ces résultats sont en accord avec des études précédentes menées au niveau carotidien et aortique dans lesquelles l'hypertrophie pariétale des CML liée à l'hypertension était invoquée comme mécanisme explicatif (Armentano et al., 1995a; Stefanadis et al., 1997). Plus récemment, il a été montré au niveau carotidien que cette élévation de la W_v s'accompagnait, du fait d'une augmentation de la PP chez l'hypertendu, d'une augmentation concomitante de l'énergie élastique emmagasinée par la paroi (W_E) résultant en une viscosité relative comparable entre les deux populations et suggérant un processus adaptatif (Armentano et al., 2006).

Au niveau radial, la stimulation endothéliale par le flux, a démasqué des réponses différentes entre les deux populations, les hypertendus présentant une augmentation plus importante de W_v par rapport à W_E aboutissant à une augmentation de la viscosité relative alors qu'elle restait stable chez les contrôles normotendus. L'augmentation de W_E avec l'augmentation du flux est le reflet, à PP constante, de l'augmentation de l'énergie stockée par la paroi secondaire à l'augmentation de la distension. A l'inverse, alors que les normotendus augmentent leur viscosité absolue dans les mêmes proportions que W_E suggérant une dissipation d'énergie adaptative, l'augmentation disproportionnée de W_v chez l'hypertendu suggère la perte de ce mécanisme d'adaptation. Ce déséquilibre n'est pas expliqué par un effet sur la contrainte pariétale, son augmentation étant moindre chez l'hypertendu, amenant à penser qu'un mécanisme endothélial direct est impliqué. Ainsi, l'administration de L-NMMA et de fluconazole chez les contrôles normotendus lors du chauffage cutané distal s'accompagne cette fois d'une augmentation de la viscosité relative malgré une augmentation moindre de la contrainte pariétale comparativement à la période contrôle, confirmant le rôle du NO et des EETs dans la régulation de la VPA en situation stimulée. L'augmentation similaire de la viscosité pariétale et de la contrainte pariétale sous sérum salé et sous fluconazole chez l'hypertendu lors de l'augmentation de la contrainte de cisaillement confirme la perte de la libération des EETs au cours de l'HTA (Bellien et al., 2012a). A l'inverse, l'augmentation similaire de la VPA sous sérum salé et L-NMMA (associé ou non au fluconazole) peut paraître étonnante mais est à interpréter à la lumière de la moindre augmentation de la contrainte pariétale sous L-NMMA. Ainsi, l'absence d'augmentation marquée de viscosité relative sous

L-NMMA chez l'hypertendu s'explique probablement par la faible augmentation de la contrainte pariétale lors de l'épreuve de chauffage.

L'ensemble de ces résultats confirment au niveau de l'artère radiale, l'équilibre qui existe entre propriétés géométriques et structurales de la paroi, tonus musculaire lisse et contrainte pariétale dans la modulation la viscosité relative que ce soit à l'état basal ou stimulé. Ces résultats soulignent également chez l'homme le rôle majeur des facteurs endothéliaux dans la régulation active de ce paramètre, par des mécanismes tonus-dépendants mais également indépendants.

Dans la troisième étude, nous avons spécifiquement évalué, dans une population de sujets sains dont la fréquence de repos était supérieure à 70 bpm, l'effet de la baisse de la FC par l'administration répétée d'ivabradine sur la VPA. Pour cela nous avons utilisé un schéma d'étude robuste, randomisé, contre placebo, en double aveugle et en cross-over. La durée relativement courte du traitement a permis de s'affranchir des effets structurels éventuels d'une baisse prolongée de la FC sur les composants de la paroi artérielle, ce qui n'était pas notre objectif. Les variations de la VPA secondaires à la baisse de la FC ont été interprétées en tenant compte des changements observés au niveau hémodynamique systémique et cardiaque. De même, nous avons étudié de façon concomitante les modifications hémodynamiques et mécaniques induites par la bradycardie au niveau carotidien et au niveau du couplage cardio-circulatoire. L'effet de l'âge sur la réponse à la bradycardie à ces différents niveaux a été évalué de façon exploratoire en comparant les résultats obtenus dans deux sous-groupes d'âge différents, pré-spécifiés au début de l'étude.

Ainsi comme attendu du fait de la bradycardie, nous avons observé après administration d'ivabradine, une augmentation du remplissage ventriculaire et du volume d'éjection systolique en lien avec l'allongement de la diastole et du temps d'éjection. Ces effets ont été observés sans modification du débit cardiaque, des pressions artérielles périphériques, de la résistance périphérique totale ou des indicateurs d'inotropisme cardiaque en accord avec la littérature (Dillinger et al., 2015; Joannides et al., 2006a; Savelieva and Camm, 2006). D'autre part, une amélioration de la perfusion coronarienne en diastole a également été observée compensant probablement un couplage cardiovasculaire moins favorable (Dillinger et al., 2015; Messerli et al., 2016). En effet, l'administration d'ivabradine s'est accompagnée d'une élévation de l'index d'augmentation carotidien sans modification du temps de réflexion ni de la VOP dans nos conditions expérimentales. Ceci suggère un mécanisme central de sommation relativement plus précoce des ondes réfléchies du fait de l'allongement de la phase d'éjection comme cela a déjà

été rapporté lors de la bradycardie (Liu et al., 2013; Williams et al., 2009a). Ce résultat n'est pas retrouvé avec l'AIX75, index normalisé sur la FC, témoignant de la fréquence-dépendance de ce phénomène. D'autre part, cette élévation de l'AIX ne s'accompagne pas d'augmentation significative de la PAS centrale. Ceci peut être expliqué par une baisse également non significative de la PAD du fait de l'allongement de la période cardiaque.

En parallèle, une diminution de la rigidité artérielle qui pourrait s'expliquer par l'augmentation de la contrainte de cisaillement, et donc la libération de facteurs endothéliaux, est observée au niveau carotidien. Cette diminution de la rigidité carotidienne contraste avec la stabilité de la VOP, témoin de la rigidité aortique. En fait, ces différences s'expliquent probablement par la nécessité d'une durée de traitement supérieure et d'une puissance plus élevée pour démontrer une baisse de la VOP avec la bradycardie (Hohneck et al., 2019; Tan et al., 2016a). Elle pourrait également traduire une moindre sensibilité, comparativement à la carotide, de l'aorte thoraco-abdominale à la diminution du tonus musculaire. Ce dernier explique en effet probablement la majorité de l'effet de la FC au niveau de la distensibilité carotidienne lors de l'administration aiguë d'ivabradine.

Dans ce contexte, la baisse de la FC d'environ 10 bpm a entraîné, au niveau carotidien, une augmentation de W_V proportionnelle à l'augmentation de W_E résultant en une viscosité relative stable. L'augmentation de W_E s'explique par l'augmentation de la distension reflétant l'augmentation de l'énergie emmagasinée par la paroi secondaire à la baisse de la rigidité en l'absence d'effet significatif au niveau de la PP. L'augmentation parallèle de l'énergie dissipée semble donc être liée à un mécanisme adaptatif à ces nouvelles conditions de travail plutôt qu'à une modification des propriétés visqueuses intrinsèques carotidiennes. Ces résultats sont en accord avec une étude chez l'animal retrouvant après administration aiguë d'ivabradine à des doses cumulées croissantes, une augmentation de W_V et de W_E , avec cependant une augmentation plus marquée de l'énergie dissipée expliquant une viscosité relative plus élevée (Albaladejo et al., 2004). L'augmentation de la PP et les conditions d'administration de l'ivabradine pourraient expliquer ces différences avec notre travail. D'autres études in vitro ou chez l'animal ont évalué l'effet de la modulation de la FC sur la VPA avec des approches méthodologiques dans le domaine fréquentiel et temporel. Ces études suggèrent une baisse de η avec l'augmentation de la FC. Ainsi, nos résultats semblent concordants, la viscosité intrinsèque du matériel diminuant avec l'augmentation de la fréquence et la dissipation d'énergie augmentant avec la baisse de la FC (Bauer et al., 1979; Bergel, 1961b; Busse et al., 1981; Gow et al., 1974; Salvucci et al., 2007). De même, en supposant que le produit $\eta\omega$ reste stable avec la bradycardie comme cela a été démontré avec le pacing, le travail visqueux, évalué

par la formule $W_D = \eta \omega \cdot A / \pi$ (où ω est la vitesse angulaire ($2\pi \cdot FC$) et A la distension) proposée par Armentano et coll., devrait augmenter au même titre que W_V , du fait de l'augmentation de la distension constatée (Armentano et al., 2006; Salvucci et al., 2007).

Par ailleurs, nous avons montré que le vieillissement s'accompagnait à l'état basal d'un travail élastique moindre (W_E), expliqué dans notre population par la baisse de l'élasticité artérielle. Parallèlement, nous avons observé une viscosité absolue plus faible, expliquant la baisse de W_V/W_E avec le vieillissement. Ceci peut s'expliquer en partie par le moindre niveau de contrainte observé dans notre population mais également par une baisse de la viscosité intrinsèque du matériau pariétal. Ainsi, contrairement à l'HTA qui s'accompagne au niveau des artères élastiques d'une hypertrophie des CML, le vieillissement s'accompagne d'une transition des CML vers un phénotype pro-inflammatoire, pro-calcifiant et sénescence et d'une fibrose pariétale pouvant expliquer les moindres propriétés visqueuses de la paroi (Dobrin, 1978; Lacolley et al., 2017, 2018; Monk and George, 2015). Ceci pourrait être délétère par une moindre atténuation de l'énergie qui serait responsable de dommages au niveau de la paroi artérielle et des organes périphériques (Armentano et al., 2006).

Enfin, l'abaissement de la FC par ivabradine contrairement aux sujets jeunes s'est accompagnée dans le groupe d'âge moyen d'une augmentation importante de W_V en présence d'une augmentation comparable de W_E . Ceci résulte en une augmentation significative de la viscosité relative chez les sujets d'âge moyen traduisant une perte de la capacité d'adaptation à la baisse de FC lors du vieillissement. Une moindre libération de facteurs endothéliaux chez le sujet d'âge moyen, malgré une augmentation du cisaillement comparable dans les deux groupes (Wils et al., 2018) pourrait être en cause. Ceci pourrait expliquer le moindre bénéfice de la bradycardie pharmacologique chez les sujets âgés (Khan and McAlister, 2006; Messerli et al., 2016).

Au terme de ce travail nous envisageons plusieurs perspectives à court ou moyen terme.

Au plan méthodologique, la comparaison entre les approches évaluant la viscosité pariétale n'a jamais été réalisée. Ainsi, des données préliminaires obtenues dans notre unité sur l'artère radiale, suggèrent une corrélation entre W_V évaluée par l'approche thermodynamique et W_D calculé à partir du coefficient de viscosité déterminé par itération (Armentano et al., 2006). Ces résultats pourraient permettre de mieux clarifier les liens qui existent entre la viscosité intrinsèque du matériel et l'énergie visqueuse dissipée.

D'autre part, même si nos premiers résultats suggèrent une baisse de la viscosité relative au cours du vieillissement, l'évaluation de ce paramètre dans une population plus large et plus âgée

reste à réaliser. De plus, les différences concernant l'effet de l'âge sur la VPA selon le type d'artère sont à éclaircir. Ainsi, les artères de conductance musculaires, du fait d'un contingent en CML et d'une dépendance au tonus plus importants, pourraient présenter des variations de viscosité absolue et relative différentes des artères de conductance élastiques au cours du vieillissement (Boutouyrie et al., 1992; Lacolley et al., 2012).

Par ailleurs, nous comparons actuellement, dans une étude ancillaire de l'étude DIAB-EETs (Duflot et al., 2019), la viscosité pariétale de l'artère carotide primitive entre des patients diabétiques de type 2 et des sujets contrôles non diabétiques. La mesure de la viscosité pariétale carotidienne est réalisée selon la même méthodologie que dans notre troisième étude. Nous supposons que les patients porteurs d'un diabète de type 2 vont présenter une augmentation de la viscosité pariétale et de la rigidité de l'artère carotide primitive comparativement aux sujets non diabétiques.

Une autre perspective de ce travail est l'évaluation des déterminants et mécanismes biologiques en cause dans les variations de VPA constatées. Nous avons montré le rôle central des facteurs endothéliaux dans la régulation de la VPA au niveau radial. Cependant, l'impact de ces facteurs dans les variations de VPA au cours de la diminution de la FC par l'ivabradine est uniquement suggéré. Ainsi, une approche biologique est prévue dans notre troisième étude. En effet, des prélèvements biologiques ont été réalisés au cours des visites d'explorations, et le dosage des facteurs endothéliaux vasorelaxants (NO, EETs), vasoconstricteurs (ET-1) et des marqueurs de perméabilité endothéliale (sVE-Cadhérine, VEGF) devraient permettre d'aborder les mécanismes impliqués dans la régulation fréquence-dépendante de la VPA. A plus long terme, une approche fondamentale évaluant, *in vitro* ou chez l'animal, le rôle la perméabilité endothéliale dans la régulation de la VPA, pourrait être envisagée.

Enfin, de façon plus générale, l'étude du rôle physiopathologique de la VPA et l'impact pronostic de ses anomalies comme celui de traitements spécifiques restent à évaluer.

CONCLUSION

La viscosité pariétale est régulée par les facteurs endothéliaux vasorelaxants telles que le NO et les EETs, chez le sujet sain au niveau de l'artère radiale. Ces facteurs semblent agir par des mécanismes tonus-dépendants et indépendants. Les patients hypertendus présentent une viscosité relative comparable à l'état basal aux sujets normotendus suggérant une adaptation de la dissipation d'énergie. Cependant, l'augmentation du cisaillement pariétal démasque une altération de ce mécanisme adaptatif chez l'hypertendu, du fait de la dysfonction endothéliale associée.

Au niveau carotidien, chez le sujet sain, la réduction de la FC par l'ivabradine augmente la viscosité absolue parallèlement à l'augmentation de l'énergie élastique, aboutissant à une viscosité relative stable. Le vieillissement s'accompagne à l'état basal de viscosités absolue et relative moindres. Lors de la bradycardie induite par l'ivabradine, une augmentation de la viscosité absolue et relative chez les sujets d'âge moyen contrairement aux plus jeunes, suggère une altération de ce mécanisme adaptatif.

L'ensemble de ces éléments pourrait expliquer les résultats controversés des traitements bradycardisants avec le vieillissement ou au cours de l'HTA. De plus, la correction pharmacologique de la dysfonction endothéliale pourrait réduire les conséquences délétères d'une augmentation de la viscosité pariétale.

BIBLIOGRAPHIE

1. Accili, E.A., Proenza, C., Baruscotti, M., and DiFrancesco, D. (2002). From funny current to HCN channels: 20 years of excitation. *News Physiol. Sci. Int. J. Physiol. Prod. Jointly Int. Union Physiol. Sci. Am. Physiol. Soc.* 17, 32–37.
2. Albaladejo, P., Copie, X., Boutouyrie, P., Laloux, B., Déclère, A.D., Smulyan, H., and Bénétos, A. (2001). Heart rate, arterial stiffness, and wave reflections in paced patients. *Hypertension* 38, 949–952.
3. Albaladejo, P., Carusi, A., Apartian, A., Lacolley, P., Safar, M.E., and Bénétos, A. (2003). Effect of chronic heart rate reduction with ivabradine on carotid and aortic structure and function in normotensive and hypertensive rats. *J. Vasc. Res.* 40, 320–328.
4. Albaladejo, P., Challande, P., Kakou, A., Benetos, A., Labat, C., Louis, H., Safar, M.E., and Lacolley, P. (2004). Selective reduction of heart rate by ivabradine: effect on the visco-elastic arterial properties in rats. *J. Hypertens.* 22, 1739–1745.
5. Alexander, R.M. (1983). *Animal mechanics* (Blackwell Scientific).
6. Alvarez, D.F., Gjerde, E.-A.B., and Townsley, M.I. (2004). Role of EETs in regulation of endothelial permeability in rat lung. *Am. J. Physiol. - Lung Cell. Mol. Physiol.* 286, L445–L451.
7. Ando, J., and Yamamoto, K. (2009). *Vascular Mechanobiology*. *Circ. J.* 73, 1983–1992.
8. ANSM/EMA (2015). *Résumé des caractéristiques du produit: Procoralan*.
9. Antonov, P., Antonova, M., Nikolova, N., Antonova, N., Vlaskovska, M., and Kasakov, L. (2008). Age dependent changes of arterial wall viscoelasticity. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 39, 63–68.
10. Apter Julia T., and Marquez Elsa (1968). Correlation of Visco-Elastic Properties of Large Arteries with Microscopic Structure. *Circ. Res.* 22, 393–404.
11. Apter Julia T., Rabinowitz Murray, and Cummings Dorothy H. (1966). Correlation of Visco-elastic Properties of Large Arteries with Microscopic Structure. *Circ. Res.* 19, 104–121.
12. Armentano, R., Megnien, J.L., Simon, A., Bellenfant, F., Barra, J., and Levenson, J. (1995a). Effects of hypertension on viscoelasticity of carotid and femoral arteries in humans. *Hypertension* 26, 48–54.
13. Armentano, R., Pessana, F., Graf, S., Romero, L., Fischer, E.C., and Levenson, J. (2001). Frequency Dependence of Arterial Wall Young Modulus After De-endothelization. In *Memorias II Congreso Latinoamericano de Ingeniería Biomedica, Habana, (Citeseer)*, p.
14. Armentano, R.L., Barra, J.G., Levenson, J., Simon, A., and Pichel, R.H. (1995b). Arterial wall mechanics in conscious dogs. Assessment of viscous, inertial, and elastic moduli to characterize aortic wall behavior. *Circ. Res.* 76, 468–478.
15. Armentano, R.L., Graf, S., Barra, J.G., Velikovskiy, G., Baglivo, H., Sánchez, R., Simon, A., Pichel, R.H., and Levenson, J. (1998). Carotid wall viscosity increase is related to intima-media thickening in hypertensive patients. *Hypertension* 31, 534–539.
16. Armentano, R.L., Barra, J.G., Santana, D.B., Pessana, F.M., Graf, S., Craiem, D., Brandani, L.M., Baglivo, H.P., and Sanchez, R.A. (2006). Smart damping modulation of carotid wall energetics in human hypertension: effects of angiotensin-converting

- enzyme inhibition. *Hypertension* 47, 384–390.
17. Armentano, R.L., Barra, J.G., Pessana, F.M., Craiem, D.O., Graf, S., Santana, D.B., and Sanchez, R.A. (2007). Smart smooth muscle spring-dampers. *IEEE Eng. Med. Biol. Mag.* 26, 62–70.
 18. Asmar, R.G., London, G.M., O'Rourke, M.E., Safar, M.E., and REASON Project Coordinators and Investigators (2001). Improvement in blood pressure, arterial stiffness and wave reflections with a very-low-dose perindopril/indapamide combination in hypertensive patient: a comparison with atenolol. *Hypertension* 38, 922–926.
 19. Avolio, A., Kim, M.O., Adji, A., Gangoda, S., Avadhanam, B., Tan, I., and Butlin, M. (2018). Cerebral Haemodynamics: Effects of Systemic Arterial Pulsatile Function and Hypertension. *Curr. Hypertens. Rep.* 20, 20.
 20. Baieth, H.E.A. (2008). Physical Parameters of Blood as a Non - Newtonian Fluid. *Int. J. Biomed. Sci. IJBS* 4, 323–329.
 21. Band, W., Goedhard, W.J.A., and Knoop, A.A. (1972). Effects of aging on dynamic viscoelastic properties of the rat's thoracic aorta. *Pflüg. Arch.* 331, 357–364.
 22. Bandick, N., and Sparks, H. (1970). Viscoelastic properties of the aorta of hypertensive rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med. Soc. Exp. Biol. Med. N. Y. N* 134, 56–60.
 23. Bangalore, S., Sawhney, S., and Messerli, F.H. (2008). Relation of beta-blocker-induced heart rate lowering and cardioprotection in hypertension. *J. Am. Coll. Cardiol.* 52, 1482–1489.
 24. Bangalore, S., Steg, G., Deedwania, P., Crowley, K., Eagle, K.A., Goto, S., Ohman, E.M., Cannon, C.P., Smith, S.C., Zeymer, U., et al. (2012). β -Blocker use and clinical outcomes in stable outpatients with and without coronary artery disease. *JAMA* 308, 1340–1349.
 25. Bangalore, S., Makani, H., Radford, M., Thakur, K., Toklu, B., Katz, S.D., DiNicolantonio, J.J., Devereaux, P.J., Alexander, K.P., Wetterslev, J., et al. (2014). Clinical outcomes with β -blockers for myocardial infarction: a meta-analysis of randomized trials. *Am. J. Med.* 127, 939–953.
 26. Bank, A.J., Wilson, R.F., Kubo, S.H., Holte, J.E., Dresing, T.J., and Wang, H. (1995). Direct effects of smooth muscle relaxation and contraction on in vivo human brachial artery elastic properties. *Circ. Res.* 77, 1008–1016.
 27. Bank, A.J., Wang, H., Holte, J.E., Mullen, K., Shammass, R., and Kubo, S.H. (1996). Contribution of collagen, elastin, and smooth muscle to in vivo human brachial artery wall stress and elastic modulus. *Circulation* 94, 3263–3270.
 28. Barra, J.G., Levenson, J., Armentano, R.L., Fischer, E.I.C., Pichel, R.H., and Simon, A. (1997). In vivo angiotensin II receptor blockade and converting enzyme inhibition on canine aortic viscoelasticity. *Am. J. Physiol. - Heart Circ. Physiol.* 272, H859–H868.
 29. Baskurt, O.K., Boynard, M., Cokelet, G.C., Connes, P., Cooke, B.M., Forconi, S., Liao, F., Hardeman, M.R., Jung, F., Meiselman, H.J., et al. (2009). New guidelines for hemorheological laboratory techniques. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 42, 75–97.
 30. Bauer, R.D., and Busse, R. (1977). *The Arterial System: Dynamics, Control Theory and Regulation* (Springer Science & Business Media).
 31. Bauer, R.D., and Pasch, Th. (1971). The quasistatic and dynamic circumferential elastic modulus of the rat tail artery studied at various wall stresses and tones of the vascular

- smooth muscle. *Pflüg. Arch.* 330, 335–346.
32. Bauer, R.D., Busse, R., Schabert, A., Summa, Y., and Wetterer, E. (1979). Separate determination of the pulsatile elastic and viscous forces developed in the arterial wall in vivo. *Pflüg. Arch. Eur. J. Physiol.* 380, 221–226.
 33. Beere, P.A., Glagov, S., and Zarins, C.K. (1984). Retarding effect of lowered heart rate on coronary atherosclerosis. *Science* 226, 180–182.
 34. Bellien, J., and Joannides, R. (2013). Epoxyeicosatrienoic acid pathway in human health and diseases. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 61, 188–196.
 35. Bellien, J., Joannides, R., Iacob, M., Arnaud, P., and Thuillez, C. (2005). Calcium-Activated Potassium Channels and NO Regulate Human Peripheral Conduit Artery Mechanics. *Hypertension* 46, 210–216.
 36. Bellien, J., Iacob, M., Gutierrez, L., Isabelle, M., Lahary, A., Thuillez, C., and Joannides, R. (2006a). Crucial Role of NO and Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factor in Human Sustained Conduit Artery Flow-Mediated Dilatation. *Hypertension* 48, 1088–1094.
 37. Bellien, J., Joannides, R., Iacob, M., Arnaud, P., and Thuillez, C. (2006b). Evidence for a basal release of a cytochrome-related endothelium-derived hyperpolarizing factor in the radial artery in humans. *Am. J. Physiol. - Heart Circ. Physiol.* 290, H1347–H1352.
 38. Bellien, J., Thuillez, C., and Joannides, R. (2008a). Role of endothelium-derived hyperpolarizing factor in the regulation of radial artery basal diameter and endothelium-dependent dilatation in vivo. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 35, 494–497.
 39. Bellien, J., Thuillez, C., and Joannides, R. (2008b). Contribution of endothelium-derived hyperpolarizing factors to the regulation of vascular tone in humans. *Fundam. Clin. Pharmacol.* 22, 363–377.
 40. Bellien, J., Favre, J., Iacob, M., Gao, J., Thuillez, C., Richard, V., and Joannides, R. (2010). Arterial stiffness is regulated by nitric oxide and endothelium-derived hyperpolarizing factor during changes in blood flow in humans. *Hypertension* 55, 674–680.
 41. Bellien, J., Iacob, M., Remy-Jouet, I., Lucas, D., Monteil, C., Gutierrez, L., Vendeville, C., Dreano, Y., Mercier, A., Thuillez, C., et al. (2012a). Epoxyeicosatrienoic acids contribute with altered nitric oxide and endothelin-1 pathways to conduit artery endothelial dysfunction in essential hypertension. *Circulation* 125, 1266–1275.
 42. Bellien, J., Remy-Jouet, I., Iacob, M., Blot, E., Mercier, A., Lucas, D., Dreano, Y., Gutierrez, L., Donnadieu, N., Thuillez, C., et al. (2012b). Impaired role of epoxyeicosatrienoic acids in the regulation of basal conduit artery diameter during essential hypertension. *Hypertension* 60, 1415–1421.
 43. Bellien, J., Iacob, M., Monteil, C., Rémy-Jouet, I., Roche, C., Duflot, T., Vendeville, C., Gutierrez, L., Thuillez, C., Richard, V., et al. (2017). Physiological role of endothelin-1 in flow-mediated vasodilatation in humans and impact of cardiovascular risk factors. *J. Hypertens.* 35, 1204–1212.
 44. Benetos, A., Laurent, S., Hoeks, A.P., Boutouyrie, P.H., and Safar, M.E. (1993a). Arterial alterations with aging and high blood pressure. A noninvasive study of carotid and femoral arteries. *Arterioscler. Thromb. J. Vasc. Biol. Am. Heart Assoc.* 13, 90–97.
 45. Benetos, A., Huguet, F., Albaladejo, P., Brisac, A.M., Pappo, M., Safar, M.E., and Levy,

- B.I. (1993b). Role of adrenergic tone in mechanical and functional properties of carotid artery during aging. *Am. J. Physiol. - Heart Circ. Physiol.* 265, H1132–H1138.
46. Benetos, A., Safar, M., Rudnichi, A., Smulyan, H., Richard, J.L., Ducimetière, P., and Guize, L. (1997). Pulse pressure: a predictor of long-term cardiovascular mortality in a French male population. *Hypertens. Dallas Tex* 1979 30, 1410–1415.
 47. Benetos, A., Rudnichi, A., Thomas, F., Safar, M., and Guize, L. (1999). Influence of heart rate on mortality in a French population: role of age, gender, and blood pressure. *Hypertension* 33, 44–52.
 48. Benetos, A., Adamopoulos, C., Bureau, J.-M., Temmar, M., Labat, C., Bean, K., Thomas, F., Pannier, B., Asmar, R., Zureik, M., et al. (2002). Determinants of Accelerated Progression of Arterial Stiffness in Normotensive Subjects and in Treated Hypertensive Subjects Over a 6-Year Period. *Circulation* 105, 1202–1207.
 49. Benetos, A., Watfa, G., Hanon, O., Salvi, P., Fantin, F., Toulza, O., Manckoundia, P., Agnoletti, D., Labat, C., and Gautier, S. (2012). Pulse Wave Velocity is Associated With 1-Year Cognitive Decline in the Elderly Older than 80 Years: The PARTAGE Study. *J. Am. Med. Dir. Assoc.* 13, 239–243.
 50. Benjamin, N., Calver, A., Collier, J., Robinson, B., Vallance, P., and Webb, D. (1995). Measuring forearm blood flow and interpreting the responses to drugs and mediators. *Hypertens. Dallas Tex* 1979 25, 918–923.
 51. Bergel, D.H. (1961a). The static elastic properties of the arterial wall. *J. Physiol.* 156, 445–457.
 52. Bergel, D.H. (1961b). The dynamic elastic properties of the arterial wall. *J. Physiol.* 156, 458–469.
 53. Bertram, C.D. (1980). Energy dissipation and pulse wave attenuation in the canine carotid artery. *J. Biomech.* 13, 1061–1073.
 54. Bezie, Y., Lacolley, P., Laurent, S., and Gabella, G. (1998). Connection of smooth muscle cells to elastic lamellae in aorta of spontaneously hypertensive rats. *Hypertens. Dallas Tex* 1979 32, 166–169.
 55. Bia, D., Aguirre, I., Zócalo, Y., Devera, L., Cabrera Fischer, E., and Armentano, R. (2005). [Regional differences in viscosity, elasticity and wall buffering function in systemic arteries: pulse wave analysis of the arterial pressure-diameter relationship]. *Rev. Esp. Cardiol.* 58, 167–174.
 56. Bismuth, C., Gerin, C., Viguié, E., Fau, D., Dupasquier, F., Cavetier, L., David, L., and Carozzo, C. (2014). The biomechanical properties of canine skin measured in situ by uniaxial extension. *J. Biomech.* 47, 1067–1073.
 57. Blacher, J., London, G.M., Safar, M.E., and Mourad, J.J. (1999). Influence of age and end-stage renal disease on the stiffness of carotid wall material in hypertension. *J. Hypertens.* 17, 237–244.
 58. Bodley, W.E. (1976). Energy dissipation in mammalian arteries—An assessment of the distribution of energy dissipation between the blood and the vessel wall. *J. Biomech.* 9, 489–494.
 59. Böhm, M., Swedberg, K., Komajda, M., Borer, J.S., Ford, I., Dubost-Brama, A., Lerebours, G., Tavazzi, L., and SHIFT Investigators (2010). Heart rate as a risk factor in chronic heart failure (SHIFT): the association between heart rate and outcomes in a

- randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 376, 886–894.
60. Bolduc, V., Drouin, A., Gillis, M.-A., Duquette, N., Thorin-Trescases, N., Frayne-Robillard, I., Des Rosiers, C., Tardif, J.-C., and Thorin, E. (2011). Heart rate-associated mechanical stress impairs carotid but not cerebral artery compliance in dyslipidemic atherosclerotic mice. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 301, H2081-2092.
 61. Bonadei, I., Sciatti, E., Vizzardì, E., Fabbriatore, D., Pagnoni, M., Rossi, L., Carubelli, V., Lombardi, C.M., and Metra, M. (2018). Effects of ivabradine on endothelial function, aortic properties and ventricular-arterial coupling in chronic systolic heart failure patients. *Cardiovasc. Ther.* 36, e12323.
 62. Bonetti, P.O., Pumper, G.M., Higano, S.T., Holmes, D.R., Kuvin, J.T., and Lerman, A. (2004). Noninvasive identification of patients with early coronary atherosclerosis by assessment of digital reactive hyperemia. *J. Am. Coll. Cardiol.* 44, 2137–2141.
 63. Boudoulas, K.D., Borer, J.S., and Boudoulas, H. (2015). Heart Rate, Life Expectancy and the Cardiovascular System: Therapeutic Considerations. *Cardiology* 132, 199–212.
 64. Boulanger, E., Puisieux, F., Gaxatte, C., and Wautier, J.-L. (2007). [Aging: role and control of glycation]. *Rev. Médecine Interne Fondée Par Société Natl. Française Médecine Interne* 28, 832–840.
 65. Bour, J. (2011). Détection de l'insuffisance cardiaque préclinique, intérêt de l'impédancemétrie. *Médecine Longévité* 3, 26–32.
 66. Bour, J., and Kellett, J. (2008). Impedance cardiography: a rapid and cost-effective screening tool for cardiac disease. *Eur. J. Intern. Med.* 19, 399–405.
 67. Boutouyrie, P., Laurent, S., Benetos, A., Girerd, X.J., Hoeks, A.P., and Safar, M.E. (1992). Opposing effects of ageing on distal and proximal large arteries in hypertensives. *J. Hypertens. Suppl. Off. J. Int. Soc. Hypertens.* 10, S87-91.
 68. Boutouyrie, P., Bézìe, Y., Lacolley, P., Challande, P., Chamiot-Clerc, P., Benetos, A., de la Faverie, J.F., Safar, M., and Laurent, S. (1997). In vivo/in vitro comparison of rat abdominal aorta wall viscosity. Influence of endothelial function. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 17, 1346–1355.
 69. Boutouyrie, P., Boumaza, S., Challande, P., Lacolley, P., and Laurent, S. (1998). Smooth muscle tone and arterial wall viscosity: an in vivo/in vitro study. *Hypertension* 32, 360–364.
 70. Boutouyrie, P., Bussy, C., Lacolley, P., Girerd, X., Laloux, B., and Laurent, S. (1999). Association Between Local Pulse Pressure, Mean Blood Pressure, and Large-Artery Remodeling. *Circulation* 100, 1387–1393.
 71. Boutouyrie, P., Germain, D.P., Fiessinger, J.-N., Laloux, B., Perdu, J., and Laurent, S. (2004). Increased carotid wall stress in vascular Ehlers-Danlos syndrome. *Circulation* 109, 1530–1535.
 72. Boutouyrie, P., Achouba, A., Trunet, P., Laurent, S., and EXPLOR Trialist Group (2010). Amlodipine-valsartan combination decreases central systolic blood pressure more effectively than the amlodipine-atenolol combination: the EXPLOR study. *Hypertens. Dallas Tex 1979* 55, 1314–1322.
 73. Boutouyrie, P., Beaussier, H., Achouba, A., Laurent, S., and EXPLOR trialists (2014). Destiffening effect of valsartan and atenolol: influence of heart rate and blood pressure. *J. Hypertens.* 32, 108–114.

74. Bramwell, J.C., and Hill, A.V. (1922). The velocity of pulse wave in man. *Proc. R. Soc. Lond. Ser. B Contain. Pap. Biol. Character* 93, 298–306.
75. Brandes, R.P. (2014). Endothelial dysfunction and hypertension. *Hypertens. Dallas Tex* 1979 64, 924–928.
76. Brandes, R.P., Fleming, I., and Busse, R. (2005). Endothelial aging. *Cardiovasc. Res.* 66, 286–294.
77. Burger, D., Kwart, D.G., Montezano, A.C., Read, N.C., Kennedy, C.R.J., Thompson, C.S., and Touyz, R.M. (2012). Microparticles induce cell cycle arrest through redox-sensitive processes in endothelial cells: implications in vascular senescence. *J. Am. Heart Assoc.* 1, e001842.
78. Busse, R., Bauer, R.D., Summa, Y., Körner, H., and Pasch, Th. (1976). Comparison of the visco-elastic properties of the tail artery in spontaneously hypertensive and normotensive rats. *Pflüg. Arch.* 364, 175–181.
79. Busse, R., Bauer, R.D., Sattler, T., and Schabert, A. (1981). Dependence of elastic and viscous properties of elastic arteries on circumferential wall stress at two different smooth muscle tones. *Pflüg. Arch. Eur. J. Physiol.* 390, 113–119.
80. Bussy, C., Boutouyrie, P., Lacolley, P., Challande, P., and Laurent, S. (2000). Intrinsic Stiffness of the Carotid Arterial Wall Material in Essential Hypertensives. *Hypertension* 35, 1049–1054.
81. Caetano, J., and Delgado Alves, J. (2015). Heart rate and cardiovascular protection. *Eur. J. Intern. Med.*
82. Califano, J.P., and Reinhart-King, C.A. (2010). Exogenous and endogenous force regulation of endothelial cell behavior. *J. Biomech.* 43, 79–86.
83. Calver, A., Collier, J., and Vallance, P. (1992). Inhibition and stimulation of nitric oxide synthesis in the human forearm arterial bed of patients with insulin-dependent diabetes. *J. Clin. Invest.* 90, 2548–2554.
84. Carfagni, M., Lenzi, E., and Pierini, M. (1998). The Loss Factor as a Measure of Mechanical Damping. p. 580.
85. Carnethon, M.R., Yan, L., Greenland, P., Garside, D.B., Dyer, A.R., Metzger, B., and Daviglius, M.L. (2008). Resting heart rate in middle age and diabetes development in older age. *Diabetes Care* 31, 335–339.
86. Cecelja, M., and Chowienczyk, P. (2009). Dissociation of aortic pulse wave velocity with risk factors for cardiovascular disease other than hypertension: a systematic review. *Hypertens. Dallas Tex* 1979 54, 1328–1336.
87. Celermajer, D.S., Sorensen, K.E., Spiegelhalter, D.J., Georgakopoulos, D., Robinson, J., and Deanfield, J.E. (1994). Aging is associated with endothelial dysfunction in healthy men years before the age-related decline in women. *J. Am. Coll. Cardiol.* 24, 471–476.
88. Chatterjee, S., Biondi-Zoccai, G., Abbate, A., D’Ascenzo, F., Castagno, D., Van Tassel, B., Mukherjee, D., and Lichstein, E. (2013). Benefits of β blockers in patients with heart failure and reduced ejection fraction: network meta-analysis. *BMJ* 346, f55.
89. Chatzizisis, Y.S., Coskun, A.U., Jonas, M., Edelman, E.R., Feldman, C.L., and Stone, P.H. (2007). Role of Endothelial Shear Stress in the Natural History of Coronary Atherosclerosis and Vascular Remodeling: Molecular, Cellular, and Vascular Behavior.

- J. Am. Coll. Cardiol. *49*, 2379–2393.
90. Chemla, D., Hébert, J.L., Coirault, C., Zamani, K., Suard, I., Colin, P., and Lecarpentier, Y. (1998). Total arterial compliance estimated by stroke volume-to-aortic pulse pressure ratio in humans. *Am. J. Physiol.* *274*, H500-505.
 91. Chowienczyk, P.J., Kelly, R.P., MacCallum, H., Millasseau, S.C., Andersson, T.L.G., Gosling, R.G., Ritter, J.M., and Änggård, E.E. (1999). Photoplethysmographic assessment of pulse wave reflection. *J. Am. Coll. Cardiol.* *34*, 2007–2014.
 92. Clark, J.M., and Glagov, S. (1985). Transmural organization of the arterial media. The lamellar unit revisited. *Arterioscler. Dallas Tex* *5*, 19–34.
 93. Cook, S., and Hess, O.M. (2010). Resting heart rate and cardiovascular events: time for a new crusade? *Eur. Heart J.* *31*, 517–519.
 94. Courand, P.-Y., and Lantelme, P. (2014). Significance, prognostic value and management of heart rate in hypertension. *Arch. Cardiovasc. Dis.* *107*, 48–57.
 95. Cox, R.H. (1975). Anisotropic properties of the canine carotid artery in vitro. *J. Biomech.* *8*, 293–300.
 96. Cucherat, M. (2007). Quantitative relationship between resting heart rate reduction and magnitude of clinical benefits in post-myocardial infarction: a meta-regression of randomized clinical trials. *Eur. Heart J.* *28*, 3012–3019.
 97. Cummins, P.M., von Offenberg Sweeney, N., Killeen, M.T., Birney, Y.A., Redmond, E.M., and Cahill, P.A. (2006). Cyclic strain-mediated matrix metalloproteinase regulation within the vascular endothelium: a force to be reckoned with. *AJP Heart Circ. Physiol.* *292*, H28–H42.
 98. Custodis, F., Baumhäkel, M., Schlimmer, N., List, F., Gensch, C., Böhm, M., and Laufs, U. (2008). Heart Rate Reduction by Ivabradine Reduces Oxidative Stress, Improves Endothelial Function, and Prevents Atherosclerosis in Apolipoprotein E-Deficient Mice. *Circulation* *117*, 2377–2387.
 99. Custodis, F., Schirmer, S.H., Baumhäkel, M., Heusch, G., Böhm, M., and Laufs, U. (2010). Vascular pathophysiology in response to increased heart rate. *J. Am. Coll. Cardiol.* *56*, 1973–1983.
 100. Custodis, F., Fries, P., Müller, A., Stamm, C., Grube, M., Kroemer, H.K., Böhm, M., and Laufs, U. (2012). Heart rate reduction by ivabradine improves aortic compliance in apolipoprotein E-deficient mice. *J. Vasc. Res.* *49*, 432–440.
 101. Custodis, F., Reil, J.-C., Laufs, U., and Böhm, M. (2013). Heart rate: a global target for cardiovascular disease and therapy along the cardiovascular disease continuum. *J. Cardiol.* *62*, 183–187.
 102. Dai, Q., Escobar, G.P., Hakala, K.W., Lambert, J.M., Weintraub, S.T., and Lindsey, M.L. (2008). The left ventricle proteome differentiates middle-aged and old left ventricles in mice. *J. Proteome Res.* *7*, 756–765.
 103. Dillinger, J.-G., Maher, V., Vitale, C., Henry, P., Logeart, D., Silberman, S.M., Allée, G., and Levy, B.I. (2015). Impact of Ivabradine on Central Aortic Blood Pressure and Myocardial Perfusion in Patients With Stable Coronary Artery Disease. *Hypertension* HYPERTENSIONAHA.115.06091.
 104. Dingemans, K.P., Teeling, P., Lagendijk, J.H., and Becker, A.E. (2000). Extracellular matrix of the human aortic media: An ultrastructural histochemical and

- immunohistochemical study of the adult aortic media. *Anat. Rec.* 258, 1–14.
105. Dobrin, P.B. (1978). Mechanical properties of arteries. *Physiol. Rev.* 58, 397–460.
 106. Dobrin, P.B., and Rovick, A.A. (1969). Influence of vascular smooth muscle on contractile mechanics and elasticity of arteries. *Am. J. Physiol.* 217, 1644–1651.
 107. Donato, A.J., Gano, L.B., Eskurza, I., Silver, A.E., Gates, P.E., Jablonski, K., and Seals, D.R. (2009). Vascular endothelial dysfunction with aging: endothelin-1 and endothelial nitric oxide synthase. *Am. J. Physiol.-Heart Circ. Physiol.* 297, H425–H432.
 108. Doyle, J.M., and Dobrin, P.B. (1973). Stress gradients in the walls of large arteries. *J. Biomech.* 6, 631–639.
 109. Drexler, H., Zeiher, A.M., Wollschläger, H., Meinertz, T., Just, H., and Bonzel, T. (1989). Flow-dependent coronary artery dilatation in humans. *Circulation* 80, 466–474.
 110. Drouin, A., Gendron, M.-È., Thorin, E., Gillis, M.-A., Mahlberg-Gaudin, F., and Tardif, J.-C. (2008). Chronic heart rate reduction by ivabradine prevents endothelial dysfunction in dyslipidaemic mice. *Br. J. Pharmacol.* 154, 749–757.
 111. Dufлот, T., Moreau-Grangé, L., Roche, C., Iacob, M., Wils, J., Rémy-Jouet, I., Cailleux, A.-F., Leuillier, M., Renet, S., Li, D., et al. (2019). Altered bioavailability of epoxyeicosatrienoic acids is associated with conduit artery endothelial dysfunction in type 2 diabetic patients. *Cardiovasc. Diabetol.* 18, 35.
 112. Dunn, M.G., and Silver, F.H. (1983). Viscoelastic Behavior of Human Connective Tissues: Relative Contribution of Viscous and Elastic Components. *Connect. Tissue Res.* 12, 59–70.
 113. Durán, W.N., Beuve, A.V., and Sánchez, F.A. (2013). Nitric oxide, S-nitrosation and endothelial permeability. *IUBMB Life* 65, 819–826.
 114. Engelen, L., Bossuyt, J., Ferreira, I., van Bortel, L.M., Reesink, K.D., Segers, P., Stehouwer, C.D., Laurent, S., and Boutouyrie, P. (2015). Reference values for local arterial stiffness. Part A: carotid artery. *J. Hypertens.* 33, 1981–1996.
 115. Ferruzzi, J., Bersi, M.R., Uman, S., Yanagisawa, H., and Humphrey, J.D. (2015). Decreased Elastic Energy Storage, Not Increased Material Stiffness, Characterizes Central Artery Dysfunction in Fibulin-5 Deficiency Independent of Sex. *J. Biomech. Eng.* 137, 031007–031007.
 116. Fischer, D., Landmesser, U., Spiekermann, S., Hilfiker-Kleiner, D., Hospely, M., Müller, M., Busse, R., Fleming, I., and Drexler, H. (2007). Cytochrome P450 2C9 is involved in flow-dependent vasodilation of peripheral conduit arteries in healthy subjects and in patients with chronic heart failure. *Eur. J. Heart Fail.* 9, 770–775.
 117. Fisslthaler, B., Dimmeler, S., Hermann, C., Busse, R., and Fleming, I. (2000). Phosphorylation and activation of the endothelial nitric oxide synthase by fluid shear stress. *Acta Physiol. Scand.* 168, 81–88.
 118. Flammer, A.J., Anderson, T., Celermajer, D.S., Creager, M.A., Deanfield, J., Ganz, P., Hamburg, N.M., Lüscher, T.F., Shechter, M., Taddei, S., et al. (2012). The assessment of endothelial function: from research into clinical practice. *Circulation* 126, 753–767.
 119. Fleming, I. (2010). Molecular mechanisms underlying the activation of eNOS. *Pflugers Arch.* 459, 793–806.
 120. Fliers, E., Kreier, F., Voshol, P.J., Havekes, L.M., Sauerwein, H.P., Kalsbeek, A., Buijs, R.M., and Romijn, J.A. (2003). White adipose tissue: getting nervous. *J.*

- Neuroendocrinol. *15*, 1005–1010.
121. Fox, K., Borer, J.S., Camm, A.J., Danchin, N., Ferrari, R., Lopez Sendon, J.L., Steg, P.G., Tardif, J.-C., Tavazzi, L., Tendera, M., et al. (2007). Resting heart rate in cardiovascular disease. *J. Am. Coll. Cardiol.* *50*, 823–830.
 122. Fox, K., Ford, I., Steg, P.G., Tendera, M., Ferrari, R., and BEAUTIFUL Investigators (2008a). Ivabradine for patients with stable coronary artery disease and left-ventricular systolic dysfunction (BEAUTIFUL): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* *372*, 807–816.
 123. Fox, K., Ford, I., Steg, P.G., Tendera, M., Robertson, M., and Ferrari, R. (2008b). Heart rate as a prognostic risk factor in patients with coronary artery disease and left-ventricular systolic dysfunction (BEAUTIFUL): a subgroup analysis of a randomised controlled trial. *The Lancet* *372*, 817–821.
 124. Fox, K., Ford, I., Steg, P.G., Tardif, J.-C., Tendera, M., Ferrari, R., and SIGNIFY Investigators (2014). Ivabradine in stable coronary artery disease without clinical heart failure. *N. Engl. J. Med.* *371*, 1091–1099.
 125. Franklin, S.S., Gustin, W., Wong, N.D., Larson, M.G., Weber, M.A., Kannel, W.B., and Levy, D. (1997). Hemodynamic patterns of age-related changes in blood pressure. The Framingham Heart Study. *Circulation* *96*, 308–315.
 126. Franklin, S.S., Khan, S.A., Wong, N.D., Larson, M.G., and Levy, D. (1999). Is pulse pressure useful in predicting risk for coronary heart Disease? The Framingham heart study. *Circulation* *100*, 354–360.
 127. Fritze, O., Romero, B., Schleicher, M., Jacob, M.P., Oh, D.-Y., Starcher, B., Schenke-Layland, K., Bujan, J., and Stock, U.A. (2012). Age-related changes in the elastic tissue of the human aorta. *J. Vasc. Res.* *49*, 77–86.
 128. Fung, Y.C. (1993). *Biomechanics: Mechanical Properties of Living Tissues* (New York: Springer-Verlag).
 129. Furchgott, R.F., and Zawadzki, J.V. (1980). The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* *288*, 373–376.
 130. Gabaldon Castillo, F., Cymberknop, L.J., Alfonso, M.R., Martinez Sartore, M., and Armentano, R.L. (2016). Evaluation of the impact of arterial wall viscosity in pressure morphology by means of a simplified 1D model. *Conf. Proc. Annu. Int. Conf. IEEE Eng. Med. Biol. Soc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc. Annu. Conf. 2016*, 2656–2658.
 131. Gamero, L.G., Armentano, R.L., Barra, J.G., Simon, A., and Levenson, J. (2001). Identification of arterial wall dynamics in conscious dogs. *Exp. Physiol.* *86*, 519–528.
 132. Gao, J., Bellien, J., Gomez, E., Henry, J.-P., Dautreaux, B., Bounoure, F., Skiba, M., Thuillez, C., and Richard, V. (2011). Soluble epoxide hydrolase inhibition prevents coronary endothelial dysfunction in mice with renovascular hypertension. *J. Hypertens.* *29*, 1128–1135.
 133. Gavard, J. (2013). Endothelial permeability and VE-cadherin. *Cell Adhes. Migr.* *7*, 455–461.
 134. Ghiadoni, L., Magagna, A., Versari, D., Kardasz, I., Huang, Y., Taddei, S., and Salvetti, A. (2003). Different Effect of Antihypertensive Drugs on Conduit Artery Endothelial Function. *Hypertension* *41*, 1281–1286.
 135. Giannattasio, C., Vincenti, A., Failla, M., Capra, A., Cirò, A., De Ceglia, S., Gentile,

- G., Brambilla, R., and Mancina, G. (2003). Effects of heart rate changes on arterial distensibility in humans. *Hypertension* 42, 253–256.
136. Giannattasio, C., Salvi, P., Valbusa, F., Kearney-Schwartz, A., Capra, A., Amigoni, M., Failla, M., Boffi, L., Madotto, F., Benetos, A., et al. (2008). Simultaneous measurement of beat-to-beat carotid diameter and pressure changes to assess arterial mechanical properties. *Hypertension* 52, 896–902.
137. Goedhard, W.J., and Knoop, A.A. (1973). A model of the arterial wall. *J. Biomech.* 6, 281–288.
138. Goto, M., and Kimoto, Y. (1966). Hysteresis and Stress-Relaxation of the Blood Vessels Studied by a Universal Tensile Testing Instrument. *Jpn. J. Physiol.* 16, 169–184.
139. Gow, B.S., and Taylor, M.G. (1968). Measurement of Viscoelastic Properties of Arteries in the Living Dog. *Circ. Res.* 23, 111–122.
140. Gow, B.S., Schonfeld, D., and Patel, D.J. (1974). The dynamic elastic properties of the canine left circumflex coronary artery. *J. Biomech.* 7, 389–395.
141. Grassi, G., Dell’Oro, R., Quarti-Trevano, F., Scopelliti, F., Seravalle, G., Paleari, F., Gamba, P.L., and Mancina, G. (2005). Neuroadrenergic and reflex abnormalities in patients with metabolic syndrome. *Diabetologia* 48, 1359–1365.
142. Green, D., Cheetham, C., Henderson, C., Weerasooriya, R., and O’Driscoll, G. (2002). Effect of cardiac pacing on forearm vascular responses and nitric oxide function. *Am. J. Physiol. - Heart Circ. Physiol.* 283, H1354–H1360.
143. Green, D.J., Dawson, E.A., Groenewoud, H.M.M., Jones, H., and Thijssen, D.H.J. (2014). Is flow-mediated dilation nitric oxide mediated?: A meta-analysis. *Hypertens. Dallas Tex* 1979 63, 376–382.
144. Greenwald, S.E. (2007). Ageing of the conduit arteries. *J. Pathol.* 211, 157–172.
145. Grignola, J.C., Ginés, F., Bia, D., and Armentano, R. (2007). Improved right ventricular-vascular coupling during active pulmonary hypertension. *Int. J. Cardiol.* 115, 171–182.
146. Haga, J.H., Li, Y.-S.J., and Chien, S. (2007). Molecular basis of the effects of mechanical stretch on vascular smooth muscle cells. *J. Biomech.* 40, 947–960.
147. Hanon, O., Bortolotto, L., Legrain, S., Forette, F., Safar, M., and Girerd, X. (1999). [Antihypertensive treatment can normalize the geometry and the arterial function in the aged patient]. *Arch. Mal. Coeur Vaiss.* 92, 1063–1066.
148. Hanon, O., Haulon, S., Lenoir, H., Seux, M.-L., Rigaud, A.-S., Safar, M., Girerd, X., and Forette, F. (2005). Relationship Between Arterial Stiffness and Cognitive Function in Elderly Subjects With Complaints of Memory Loss. *Stroke* 36, 2193–2197.
149. Hansen, F., Mangell, P., Sonesson, B., and Länne, T. (1995). Diameter and compliance in the human common carotid artery — variations with age and sex. *Ultrasound Med. Biol.* 21, 1–9.
150. Hayoz, D., Weber, R., Pechère, A., Burnier, M., and Brunner, H.R. (1997). Heterogeneous vascular response to vasopressin: radial artery versus forearm blood flow. *J. Hypertens.* 15, 35–41.
151. He, W., Xiao, H., and Liu, X. (2012). Numerical simulation of human systemic arterial hemodynamics based on a transmission line model and recursive algorithm. *J. Mech. Med. Biol.* 12, 1250020.

152. Heintz, B., Dörr, R., Gillessen, T., Walkenhorst, F., Krebs, W., Hanrath, P., and Sieberth, H.G. (1993). Do arterial endothelin 1 levels affect local arterial stiffness? *Am. Heart J.* *126*, 987–989.
153. Heymes, C., Habib, A., Yang, D., Mathieu, E., Marotte, F., Samuel, J., and Boulanger, C.M. (2000). Cyclo-oxygenase-1 and -2 contribution to endothelial dysfunction in ageing. *Br. J. Pharmacol.* *131*, 804–810.
154. Hillis, G.S., Woodward, M., Rodgers, A., Chow, C.K., Li, Q., Zoungas, S., Patel, A., Webster, R., Batty, G.D., Ninomiya, T., et al. (2012). Resting heart rate and the risk of death and cardiovascular complications in patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetologia* *55*, 1283–1290.
155. Himburg, H.A., Dowd, S.E., and Friedman, M.H. (2007). Frequency-dependent response of the vascular endothelium to pulsatile shear stress. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* *293*, H645-653.
156. Hirata, K., Yaginuma, T., O'Rourke, M.F., and Kawakami, M. (2006). Age-related changes in carotid artery flow and pressure pulses: possible implications for cerebral microvascular disease. *Stroke J. Cereb. Circ.* *37*, 2552–2556.
157. Hoeks, A.P., Willigers, J.M., and Reneman, R.S. (2000). Effects of assessment and processing techniques on the shape of arterial pressure-distension loops. *J. Vasc. Res.* *37*, 494–500.
158. Hohncke, A.L., Fries, P., Ströder, J., Schneider, G., Wagenpfeil, S., Schirmer, S.H., Böhm, M., Laufs, U., and Custodis, F. (2019). Effects of heart rate reduction with ivabradine on vascular stiffness and endothelial function in chronic stable coronary artery disease. *J. Hypertens.* *37*, 1023–1031.
159. Holzapfel, G.A., and Ogden, R.W. (2014). *Biomechanics of Soft Tissue in Cardiovascular Systems* (Springer).
160. van Hoof, R.H.M., Hermeling, E., Sluimer, J.C., Salzmann, J., Hoeks, A.P.G., Roussel, J., Daemen, M.J.A.P., Struijker-Boudier, H., Wildberger, J.E., Heeneman, S., et al. (2017). Heart rate lowering treatment leads to a reduction in vulnerable plaque features in atherosclerotic rabbits. *PLoS One* *12*, e0179024.
161. Hutcherson, I.R., and Griffith, T.M. (1991). Release of endothelium-derived relaxing factor is modulated both by frequency and amplitude of pulsatile flow. *Am. J. Physiol.* *261*, H257-262.
162. Iiyama, K., Nagano, M., Yo, Y., Nagano, N., Kamide, K., Higaki, J., Mikami, H., and Ogihara, T. (1996). Impaired endothelial function with essential hypertension assessed by ultrasonography. *Am. Heart J.* *132*, 779–782.
163. Imig, J.D. (2016). Epoxyeicosatrienoic Acids and 20-Hydroxyeicosatetraenoic Acid on Endothelial and Vascular Function. *Adv. Pharmacol. San Diego Calif* *77*, 105–141.
164. Imura, T., Yamamoto, K., Satoh, T., Kanamori, K., Mikami, T., and Yasuda, H. (1990). In vivo viscoelastic behavior in the human aorta. *Circ. Res.* *66*, 1413–1419.
165. Jacob, M.P. (2003). Extracellular matrix remodeling and matrix metalloproteinases in the vascular wall during aging and in pathological conditions. *Biomed. Pharmacother. Biomedecine Pharmacother.* *57*, 195–202.
166. Janmey, P.A. (1991). Mechanical properties of cytoskeletal polymers. *Curr. Opin. Cell Biol.* *3*, 4–11.

167. Jedlickova, L., Merkovska, L., Jackova, L., Janicko, M., Fedacko, J., Novakova, B., Chmelarova, A., Majernik, J., and Pella, D. (2015). Effect of Ivabradine on Endothelial Function in Patients with Stable Angina Pectoris: Assessment with the Endo-PAT 2000 Device. *Adv. Ther.* 32, 962–970.
168. Joannides, R., Richard, V., Moore, N., Godin, M., and Thuillez, C. (1995a). Influence of sympathetic tone on mechanical properties of muscular arteries in humans. *Am. J. Physiol. - Heart Circ. Physiol.* 268, H794–H801.
169. Joannides, R., Haefeli, W.E., Linder, L., Richard, V., Bakkali, E.H., Thuillez, C., and Lüscher, T.F. (1995b). Nitric Oxide Is Responsible for Flow-Dependent Dilatation of Human Peripheral Conduit Arteries In Vivo. *Circulation* 91, 1314–1319.
170. Joannides, R., Richard, V., Haefeli, W.E., Linder, L., Lüscher, T.F., and Thuillez, C. (1995c). Role of basal and stimulated release of nitric oxide in the regulation of radial artery caliber in humans. *Hypertens. Dallas Tex* 1979 26, 327–331.
171. Joannides, R., Richard, V., Haefeli, W.E., Benoist, A., Linder, L., Lüscher, T.F., and Thuillez, C. (1997). Role of Nitric Oxide in the Regulation of the Mechanical Properties of Peripheral Conduit Arteries in Humans. *Hypertension* 30, 1465–1470.
172. Joannides, R., Costentin, A., Iacob, M., Bakkali, E.-H., Richard, M.-O., and Thuillez, C. (2001). Role Of Arterial Smooth Muscle Tone And Geometry In The Regulation Of Peripheral Conduit Artery Mechanics By Shear Stress. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 28, 1025–1031.
173. Joannides, R., Costentin, A., Iacob, M., Compagnon, P., Lahary, A., and Thuillez, C. (2002). Influence of vascular dimension on gender difference in flow-dependent dilatation of peripheral conduit arteries. *Am. J. Physiol. - Heart Circ. Physiol.* 282, H1262–H1269.
174. Joannides, R., Moore, N., Iacob, M., Compagnon, P., Lerebours, G., Menard, J.-F., and Thuillez, C. (2006a). Comparative effects of ivabradine, a selective heart rate-lowering agent, and propranolol on systemic and cardiac haemodynamics at rest and during exercise. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 61, 127–137.
175. Joannides, R., Bellien, J., and Thuillez, C. (2006b). Clinical methods for the evaluation of endothelial function – a focus on resistance arteries. *Fundam. Clin. Pharmacol.* 20, 311–320.
176. Joannides, R., Bellien, J., Thurlure, C., Iacob, M., Abeel, M., and Thuillez, C. (2008). Fixed Combination of Perindopril and Indapamide at Low Dose Improves Endothelial Function in Essential Hypertensive Patients After Acute Administration. *Am. J. Hypertens.* 21, 679–684.
177. Jochmann, N., Schröter, F., Knebel, F., Hättasch, R., Gericke, C., Stangl, K., Baumann, G., and Stangl, V. (2014). Effect of ivabradine-induced heart rate reduction on flow-mediated dilation measured with high-sensitivity ultrasound in patients with stable coronary heart disease. *Cardiovasc. Ultrasound* 12, 5.
178. Johnson, B.D., Mather, K.J., and Wallace, J.P. (2011). Mechanotransduction of shear in the endothelium: Basic studies and clinical implications. *Vasc. Med.* 16, 365–377.
179. Kähönen, M., Ylitalo, R., Kööbi, T., Turjanmaa, V., and Ylitalo, P. (1998). Influence of captopril, propranolol, and verapamil on arterial pulse wave velocity and other cardiovascular parameters in healthy volunteers. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.* 36, 483–

489.

180. Kalluri, R. (2003). Basement membranes: structure, assembly and role in tumour angiogenesis. *Nat. Rev. Cancer* 3, 422–433.
181. Kampus, P., Serg, M., Kals, J., Zagura, M., Muda, P., Karu, K., Zilmer, M., and Eha, J. (2011). Differential effects of nebivolol and metoprolol on central aortic pressure and left ventricular wall thickness. *Hypertension* 57, 1122–1128.
182. Kannel, W.B., Kannel, C., Paffenbarger, R.S., and Cupples, L.A. (1987). Heart rate and cardiovascular mortality: the Framingham Study. *Am. Heart J.* 113, 1489–1494.
183. Karamanoglu, M., O'Rourke, M.F., Avolio, A.P., and Kelly, R.P. (1993). An analysis of the relationship between central aortic and peripheral upper limb pressure waves in man. *Eur. Heart J.* 14, 160–167.
184. Karamanoglu, M., Gallagher, D.E., Avolio, A.P., and O'Rourke, M.F. (1994). Functional origin of reflected pressure waves in a multibranched model of the human arterial system. *Am. J. Physiol.* 267, H1681-1688.
185. Kawano, H., Yamamoto, K., Gando, Y., Tanimoto, M., Murakami, H., Ohmori, Y., Sanada, K., Tabata, I., Higuchi, M., and Miyachi, M. (2013). Lack of age-related increase in carotid artery wall viscosity in cardiorespiratory fit men. *J. Hypertens.* 31, 2370–2379.
186. Ker, R.F. (1981). Dynamic tensile properties of the plantaris tendon of sheep (*Ovis aries*). *J. Exp. Biol.* 93, 283–302.
187. Khan, N., and McAlister, F.A. (2006). Re-examining the efficacy of β -blockers for the treatment of hypertension: a meta-analysis. *CMAJ Can. Med. Assoc. J.* 174, 1737–1742.
188. Kim, J.R., Kiefe, C.I., Liu, K., Williams, O.D., Jacobs, D.R., and Oberman, A. (1999). Heart rate and subsequent blood pressure in young adults: the CARDIA study. *Hypertens. Dallas Tex* 1979 33, 640–646.
189. Kinlay, S., Creager, M.A., Fukumoto, M., Hikita, H., Fang, J.C., Selwyn, A.P., and Ganz, P. (2001). Endothelium-Derived Nitric Oxide Regulates Arterial Elasticity in Human Arteries In Vivo. *Hypertension* 38, 1049–1053.
190. Kleinbongard, P., Gedik, N., Witting, P., Freedman, B., Klöcker, N., and Heusch, G. (2015). Pleiotropic, heart rate-independent cardioprotection by ivabradine. *Br. J. Pharmacol.* 172, n/a-n/a.
191. Koller, A., and Kaley, G. (1991). Endothelial regulation of wall shear stress and blood flow in skeletal muscle microcirculation. *Am. J. Physiol.* 260, H862-868.
192. Komajda, M., Isnard, R., Cohen-Solal, A., Metra, M., Pieske, B., Ponikowski, P., Voors, A.A., Dominjon, F., Henon-Goburdhun, C., Pannaux, M., et al. (2017). Effect of ivabradine in patients with heart failure with preserved ejection fraction: the EDIFY randomized placebo-controlled trial. *Eur. J. Heart Fail.*
193. Kosmala, W., Holland, D.J., Rojek, A., Wright, L., Przewlocka-Kosmala, M., and Marwick, T.H. (2013). Effect of If-channel inhibition on hemodynamic status and exercise tolerance in heart failure with preserved ejection fraction: a randomized trial. *J. Am. Coll. Cardiol.* 62, 1330–1338.
194. Kristal-Boneh, E., Silber, H., Harari, G., and Froom, P. (2000). The association of resting heart rate with cardiovascular, cancer and all-cause mortality. Eight year follow-up of 3527 male Israeli employees (the CORDIS Study). *Eur. Heart J.* 21, 116–124.

195. Kröller-Schön, S., Schulz, E., Wenzel, P., Kleschyov, A.L., Hortmann, M., Torzewski, M., Oelze, M., Renné, T., Daiber, A., and Münzel, T. (2011). Differential effects of heart rate reduction with ivabradine in two models of endothelial dysfunction and oxidative stress. *Basic Res. Cardiol.* *106*, 1147–1158.
196. Krummen, S., Drouin, A., Gendron, M.-E., Falck, J.R., and Thorin, E. (2006). ROS-sensitive cytochrome P450 activity maintains endothelial dilatation in ageing but is transitory in dyslipidaemic mice. *Br. J. Pharmacol.* *147*, 897–904.
197. Kyriakides, Z.S., Kremastinos, D.T., Bofilis, E., Tousoulis, D., Antoniadis, A., and Webb, D.J. (2000). Endogenous endothelin maintains coronary artery tone by endothelin type A receptor stimulation in patients undergoing coronary arteriography. *Heart Br. Card. Soc.* *84*, 176–182.
198. Lacolley, P., Challande, P., Boumaza, S., Cohuet, G., Laurent, S., Boutouyrie, P., Grimaud, J.-A., Paulin, D., Lamazière, J.-M.D., and Li, Z. (2001). Mechanical properties and structure of carotid arteries in mice lacking desmin. *Cardiovasc. Res.* *51*, 178–187.
199. Lacolley, P., Regnault, V., Nicoletti, A., Li, Z., and Michel, J.-B. (2012). The vascular smooth muscle cell in arterial pathology: a cell that can take on multiple roles. *Cardiovasc. Res.* *95*, 194–204.
200. Lacolley, P., Regnault, V., Segers, P., and Laurent, S. (2017). Vascular Smooth Muscle Cells and Arterial Stiffening: Relevance in Development, Aging, and Disease. *Physiol. Rev.* *97*, 1555–1617.
201. Lacolley, P., Regnault, V., and Avolio, A.P. (2018). Smooth muscle cell and arterial aging: basic and clinical aspects. *Cardiovasc. Res.* *114*, 513–528.
202. Lakatta, E.G. (2003). Arterial and Cardiac Aging: Major Shareholders in Cardiovascular Disease Enterprises Part III: Cellular and Molecular Clues to Heart and Arterial Aging. *Circulation* *107*, 490–497.
203. Lakatta, E.G. (2015). So! What’s aging? Is cardiovascular aging a disease? *J. Mol. Cell. Cardiol.* *83*, 1–13.
204. Lakatta, E.G., and Levy, D. (2003). Arterial and Cardiac Aging: Major Shareholders in Cardiovascular Disease Enterprises Part I: Aging Arteries: A “Set Up” for Vascular Disease. *Circulation* *107*, 139–146.
205. Lamontagne, D., Pohl, U., and Busse, R. (1992). Mechanical deformation of vessel wall and shear stress determine the basal release of endothelium-derived relaxing factor in the intact rabbit coronary vascular bed. *Circ. Res.* *70*, 123–130.
206. Landsberg, L. (2001). Insulin-mediated sympathetic stimulation: role in the pathogenesis of obesity-related hypertension (or, how insulin affects blood pressure, and why). *J. Hypertens.* *19*, 523–528.
207. Lang, C.C., Gupta, S., Kalra, P., Keavney, B., Menown, I., Morley, C., and Padmanabhan, S. (2010). Elevated heart rate and cardiovascular outcomes in patients with coronary artery disease: Clinical evidence and pathophysiological mechanisms. *Atherosclerosis* *212*, 1–8.
208. Langewouters, G.J., Wesseling, K.H., and Goedhard, W.J.A. (1984). The static elastic properties of 45 human thoracic and 20 abdominal aortas in vitro and the parameters of a new model. *J. Biomech.* *17*, 425–435.

209. Lantelme, P., Mestre, C., Lievre, M., Gressard, A., and Milon, H. (2002). Heart rate: an important confounder of pulse wave velocity assessment. *Hypertension* 39, 1083–1087.
210. Laurent, S., and Boutouyrie, P. (2015). The Structural Factor of Hypertension: Large and Small Artery Alterations. *Circ. Res.* 116, 1007–1021.
211. Laurent, S., Lacolley, P., Brunel, P., Laloux, B., Pannier, B., and Safar, M. (1990). Flow-dependent vasodilation of brachial artery in essential hypertension. *Am. J. Physiol.* 258, H1004-1011.
212. Laurent, S., Hayoz, D., Trazzi, S., Boutouyrie, P., Waeber, B., Omboni, S., Brunner, H.R., Mancia, G., and Safar, M. (1993). Isobaric compliance of the radial artery is increased in patients with essential hypertension. *J. Hypertens.* 11, 89–98.
213. Laurent, S., Caviezel, B., Beck, L., Girerd, X., Billaud, E., Boutouyrie, P., Hoeks, A., and Safar, M. (1994). Carotid artery distensibility and distending pressure in hypertensive humans. *Hypertension* 23, 878–883.
214. Laurent, S., Boutouyrie, P., and Lacolley, P. (2005). Structural and Genetic Bases of Arterial Stiffness. *Hypertension* 45, 1050–1055.
215. Laurent, S., Cockcroft, J., Van Bortel, L., Boutouyrie, P., Giannattasio, C., Hayoz, D., Pannier, B., Vlachopoulos, C., Wilkinson, I., Struijker-Boudier, H., et al. (2006). Expert consensus document on arterial stiffness: methodological issues and clinical applications. *Eur. Heart J.* 27, 2588–2605.
216. Lawton, R.W. (1955). Measurements on the Elasticity and Damping of Isolated Aortic Strips of the Dog. *Circ. Res.* 3, 403–408.
217. Lazan, B.J. (1968). Damping of materials and members in structural mechanics (Oxford, England: Pergamon Press).
218. Learoyd, B.M., and Taylor, M.G. (1966). Alterations with Age in the Viscoelastic Properties of Human Arterial Walls. *Circ. Res.* 18, 278–292.
219. Lee, A.R., Pechenino, A.S., Dong, H., Hammock, B.D., and Knowlton, A.A. (2013). Aging, estrogen loss and epoxyeicosatrienoic acids (EETs). *PloS One* 8, e70719.
220. Lehoux, S. (2006). Redox signalling in vascular responses to shear and stretch. *Cardiovasc. Res.* 71, 269–279.
221. Lehoux, S., Castier, Y., and Tedgui, A. (2006). Molecular mechanisms of the vascular responses to haemodynamic forces. *J. Intern. Med.* 259, 381–392.
222. Lekakis, J., Abraham, P., Balbarini, A., Blann, A., Boulanger, C.M., Cockcroft, J., Cosentino, F., Deanfield, J., Gallino, A., Ikonomidis, I., et al. (2011). Methods for evaluating endothelial function: a position statement from the European Society of Cardiology Working Group on Peripheral Circulation. *Eur. J. Cardiovasc. Prev. Rehabil. Off. J. Eur. Soc. Cardiol. Work. Groups Epidemiol. Prev. Card. Rehabil. Exerc. Physiol.* 18, 775–789.
223. Lénárd, Z., Fülöp, D., Visontai, Z., Jokkel, G., Reneman, R., and Kollai, M. (2000). Static versus dynamic distensibility of the carotid artery in humans. *J. Vasc. Res.* 37, 103–111.
224. Liang, Y.L., Gatzka, C.D., Du, X.J., Cameron, J.D., Kingwell, B.A., and Dart, A.M. (1999). Effects of heart rate on arterial compliance in men. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 26, 342–346.
225. Lie, M., Sejersted, O.M., and Kiil, F. (1970). Local regulation of vascular cross section

- during changes in femoral arterial blood flow in dogs. *Circ. Res.* 27, 727–737.
226. Lieberman, E.H., Gerhard, M.D., Uehata, A., Selwyn, A.P., Ganz, P., Yeung, A.C., and Creager, M.A. (1996). Flow-induced vasodilation of the human brachial artery is impaired in patients <40 years of age with coronary artery disease. *Am. J. Cardiol.* 78, 1210–1214.
227. Linde, F., Hvid, I., and Pongsoipetch, B. (1989). Energy absorptive properties of human trabecular bone specimens during axial compression. *J. Orthop. Res.* 7, 432–439.
228. Linder, L., Kiowski, W., Bühler, F.R., and Lüscher, T.F. (1990). Indirect evidence for release of endothelium-derived relaxing factor in human forearm circulation in vivo. Blunted response in essential hypertension. *Circulation* 81, 1762–1767.
229. Liu, M., Li, G.-L., Li, Y., and Wang, J.-G. (2013). Effects of Various Antihypertensive Drugs on Arterial Stiffness and Wave Reflections. *Pulse Basel Switz.* 1, 97–107.
230. London, G.M., and Pannier, B. (2010). Arterial functions: how to interpret the complex physiology. *Nephrol. Dial. Transplant.* 25, 3815–3823.
231. Long, D.A., Newaz, M.A., Prabhakar, S.S., Price, K.L., Truong, L.D., Feng, L., Mu, W., Oyekan, A.O., and Johnson, R.J. (2005). Loss of nitric oxide and endothelial-derived hyperpolarizing factor-mediated responses in aging. *Kidney Int.* 68, 2154–2163.
232. Lopatin, Y.M., and Vitale, C. (2016). Effect of ivabradine on central aortic blood pressure in patients with stable coronary artery disease: What do we know? *Int. J. Cardiol.* 224, 145–148.
233. MacArthur, P.H., Shiva, S., and Gladwin, M.T. (2007). Measurement of circulating nitrite and S-nitrosothiols by reductive chemiluminescence. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life. Sci.* 851, 93–105.
234. Maczewski, M., and Mackiewicz, U. (2008). Effect of metoprolol and ivabradine on left ventricular remodelling and Ca²⁺ handling in the post-infarction rat heart. *Cardiovasc. Res.* 79, 42–51.
235. Mahmud, A., and Feely, J. (2008). Beta-blockers reduce aortic stiffness in hypertension but nebivolol, not atenolol, reduces wave reflection. *Am. J. Hypertens.* 21, 663–667.
236. Maio, R., Miceli, S., Sciacqua, A., Leone, G.G., Bruni, R., Naccarato, P., Martino, F., Sesti, G., and Perticone, F. (2013). Heart rate affects endothelial function in essential hypertension. *Intern. Emerg. Med.* 8, 211–219.
237. Maltete, D., Bellien, J., Cabrejo, L., Iacob, M., Proust, F., Mihout, B., Thuillez, C., Guegan-Massardier, E., and Joannides, R. (2010). Hypertrophic remodeling and increased arterial stiffness in patients with intracranial aneurysms. *Atherosclerosis* 211, 486–491.
238. Mangiacapra, F., Colaiori, I., Ricottini, E., Balducci, F., Creta, A., Demartini, C., Minotti, G., and Sciascio, G.D. (2016). Heart Rate reduction by IVabradine for improvement of ENDOthELial function in patients with coronary artery disease: the RIVENDEL study. *Clin. Res. Cardiol.* 1–7.
239. Mangoni, M.E., and Nargeot, J. (2008). Genesis and Regulation of the Heart Automaticity. *Physiol. Rev.* 88, 919–982.
240. Mangoni, A.A., Mircoli, L., Giannattasio, C., Ferrari, A.U., and Mancina, G. (1996). Heart rate-dependence of arterial distensibility in vivo. *J. Hypertens.* 14, 897–901.
241. Manisty, C.H., and Hughes, A.D. (2013). Meta-analysis of the comparative effects of

- different classes of antihypertensive agents on brachial and central systolic blood pressure, and augmentation index. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 75, 79–92.
242. McDonald, D.A., and Taylor, M.G. (1959). 3 - The Hydrodynamics of the Arterial Circulation. *Prog. Biophys. Biophys. Chem.* 9, 105–173.
243. McEniery, C.M., Qasem, A., Schmitt, M., Avolio, A.P., Cockcroft, J.R., and Wilkinson, I.B. (2003). Endothelin-1 regulates arterial pulse wave velocity in vivo. *J. Am. Coll. Cardiol.* 42, 1975–1981.
244. McEniery, C.M., Schmitt, M., Qasem, A., Webb, D.J., Avolio, A.P., Wilkinson, I.B., and Cockcroft, J.R. (2004). Nebivolol increases arterial distensibility in vivo. *Hypertens. Dallas Tex 1979* 44, 305–310.
245. McGaughey, T.J., Fletcher, E.A., and Shah, S.A. (2016). Impact of Antihypertensive Agents on Central Systolic Blood Pressure and Augmentation Index: A Meta-Analysis. *Am. J. Hypertens.* 29, 448–457.
246. Meinders, J.M., and Hoeks, A.P.G. (2004). Simultaneous assessment of diameter and pressure waveforms in the carotid artery. *Ultrasound Med. Biol.* 30, 147–154.
247. Meister, J.J., Tardy, Y., Stergiopoulos, N., Hayoz, D., Brunner, H.R., and Etienne, J.D. (1992). Non-invasive method for the assessment of non-linear elastic properties and stress of forearm arteries in vivo. *J. Hypertens. Suppl. Off. J. Int. Soc. Hypertens.* 10, S23-26.
248. Messerli, F.H., Rimoldi, S.F., Bangalore, S., Bavishi, C., and Laurent, S. (2016). When an Increase in Central Systolic Pressure Overrides the Benefits of Heart Rate Lowering. *J. Am. Coll. Cardiol.* 68, 754–762.
249. Millasseau, S.C., Stewart, A.D., Patel, S.J., Redwood, S.R., and Chowienczyk, P.J. (2005). Evaluation of Carotid-Femoral Pulse Wave Velocity Influence of Timing Algorithm and Heart Rate. *Hypertension* 45, 222–226.
250. Millasseau, S.C., Ritter, J.M., Takazawa, K., and Chowienczyk, P.J. (2006). Contour analysis of the photoplethysmographic pulse measured at the finger. *J. Hypertens.* 24, 1449–1456.
251. Milnor, W.R. (1990). *Cardiovascular Physiology* (Oxford University Press).
252. Minuz, P., Jiang, H., Fava, C., Turolo, L., Tacconelli, S., Ricci, M., Patrignani, P., Morganti, A., Lechi, A., and McGiff, J.C. (2008). Altered release of cytochrome p450 metabolites of arachidonic acid in renovascular disease. *Hypertens. Dallas Tex 1979* 51, 1379–1385.
253. Mircoli, L., Mangoni, A.A., Giannattasio, C., Mancia, G., and Ferrari, A.U. (1999). Heart rate-dependent stiffening of large arteries in intact and sympathectomized rats. *Hypertension* 34, 598–602.
254. Mitchell, G.F., Parise, H., Benjamin, E.J., Larson, M.G., Keyes, M.J., Vita, J.A., Vasan, R.S., and Levy, D. (2004). Changes in arterial stiffness and wave reflection with advancing age in healthy men and women: the Framingham Heart Study. *Hypertension* 43, 1239–1245.
255. Mitchell, J.A., Ali, F., Bailey, L., Moreno, L., and Harrington, L.S. (2008). Role of nitric oxide and prostacyclin as vasoactive hormones released by the endothelium. *Exp. Physiol.* 93, 141–147.
256. Moncada, S., Gryglewski, R., Bunting, S., and Vane, J.R. (1976). An enzyme isolated

- from arteries transforms prostaglandin endoperoxides to an unstable substance that inhibits platelet aggregation. *Nature* 263, 663–665.
257. Monk, B.A., and George, S.J. (2015). The Effect of Ageing on Vascular Smooth Muscle Cell Behaviour - A Mini-Review. *Gerontology* 61, 416–426.
 258. Morcet, J.F., Safar, M., Thomas, F., Guize, L., and Benetos, A. (1999). Associations between heart rate and other risk factors in a large French population. *J. Hypertens.* 17, 1671–1676.
 259. Mulder, P., and Thuillez, C. (2006). Heart rate slowing for myocardial dysfunction/heart failure. *Adv. Cardiol.* 43, 97–105.
 260. Mulder, P., Barbier, S., Chagraoui, A., Richard, V., Henry, J.P., Lallemand, F., Renet, S., Lerebours, G., Mahlberg-Gaudin, F., and Thuillez, C. (2004). Long-term heart rate reduction induced by the selective I(f) current inhibitor ivabradine improves left ventricular function and intrinsic myocardial structure in congestive heart failure. *Circulation* 109, 1674–1679.
 261. Nabel, E.G., Ganz, P., Gordon, J.B., Alexander, R.W., and Selwyn, A.P. (1988). Dilation of normal and constriction of atherosclerotic coronary arteries caused by the cold pressor test. *Circulation* 77, 43–52.
 262. Nar, G., Inci, S., Aksan, G., Demirelli, S., Soylu, K., Yuksel, S., Gulel, O., and Icli, A. (2015). Ivabradine on aortic stiffness in patients with heart failure. *J. Investig. Med. Off. Publ. Am. Fed. Clin. Res.* 63, 620–625.
 263. Nerla, R., Di Franco, A., Milo, M., Pitocco, D., Zaccardi, F., Tarzia, P., Sarullo, F.M., Villano, A., Russo, G., Stazi, A., et al. (2012). Differential effects of heart rate reduction by atenolol or ivabradine on peripheral endothelial function in type 2 diabetic patients. *Heart Br. Card. Soc.* 98, 1812–1816.
 264. Nichols, W., O'Rourke, M., and Vlachopoulos, C. (2011). McDonald's Blood Flow in Arteries, Sixth Edition: Theoretical, Experimental and Clinical Principles (CRC Press).
 265. Nowak, K.L., Rossman, M.J., Chonchol, M., and Seals, D.R. (2018). Strategies for Achieving Healthy Vascular Aging. *Hypertens. Dallas Tex* 1979 71, 389–402.
 266. Orban, F. (2011). Damping of materials and members in structures. *J. Phys. Conf. Ser.* 268, 012022.
 267. O'Rourke, M.F., and Hashimoto, J. (2007). Mechanical factors in arterial aging: a clinical perspective. *J. Am. Coll. Cardiol.* 50, 1–13.
 268. O'Rourke M F, and Avolio A P (1980). Pulsatile flow and pressure in human systemic arteries. Studies in man and in a multibranched model of the human systemic arterial tree. *Circ. Res.* 46, 363–372.
 269. Osanai, T., Fujita, N., Fujiwara, N., Nakano, T., Takahashi, K., Guan, W., and Okumura, K. (2000). Cross talk of shear-induced production of prostacyclin and nitric oxide in endothelial cells. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 278, H233-238.
 270. Pains, A., Boutouyrie, P., Calvet, D., Zidi, M., Agabiti-Rosei, E., and Laurent, S. (2007). Multiaxial mechanical characteristics of carotid plaque: analysis by multiarray echotracking system. *Stroke* 38, 117–123.
 271. Palatini, P., and Parati, G. (2010). Persistently elevated heart rate accelerates the progression of arterial stiffness. *J. Hypertens.* 28, 653–656.
 272. Palatini, P., Casiglia, E., Pauletto, P., Staessen, J., Kaciroti, N., and Julius, S. (1997).

- Relationship of tachycardia with high blood pressure and metabolic abnormalities: a study with mixture analysis in three populations. *Hypertens. Dallas Tex* 1979 *30*, 1267–1273.
273. Palatini, P., Dorigatti, F., Zaetta, V., Mormino, P., Mazzer, A., Bortolazzi, A., D'Este, D., Pegoraro, F., Milani, L., Mos, L., et al. (2006). Heart rate as a predictor of development of sustained hypertension in subjects screened for stage 1 hypertension: the HARVEST Study. *J. Hypertens.* *24*, 1873–1880.
274. Palatini, P., Mos, L., Santonastaso, M., Zanatta, N., Mormino, P., Saladini, F., Bortolazzi, A., Cozzio, S., Garavelli, G., and HARVEST Study Group (2011). Resting heart rate as a predictor of body weight gain in the early stage of hypertension. *Obes. Silver Spring Md* *19*, 618–623.
275. Palatini, P., Rosei, E.A., Casiglia, E., Chalmers, J., Ferrari, R., Grassi, G., Inoue, T., Jelakovic, B., Jensen, M.T., Julius, S., et al. (2016). Management of the hypertensive patient with elevated heart rate: Statement of the Second Consensus Conference endorsed by the European Society of Hypertension. *J. Hypertens.* *34*, 813–821.
276. Palatini Paolo (2011). Role of Elevated Heart Rate in the Development of Cardiovascular Disease in Hypertension. *Hypertension* *58*, 745–750.
277. Paneni, F., Diaz Cañestro, C., Libby, P., Lüscher, T.F., and Camici, G.G. (2017). The Aging Cardiovascular System: Understanding It at the Cellular and Clinical Levels. *J. Am. Coll. Cardiol.* *69*, 1952–1967.
278. Patel, D.J., Janicki, J.S., Vaishnav, R.N., and Young, J.T. (1973). Dynamic Anisotropic Viscoelastic Properties of the Aorta in Living Dogs. *Circ. Res.* *32*, 93–107.
279. Paul, R.G., and Bailey, A.J. (1996). Glycation of collagen: the basis of its central role in the late complications of ageing and diabetes. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* *28*, 1297–1310.
280. Peller, M., Ozierański, K., Balsam, P., Grabowski, M., Filipiak, K.J., and Opolski, G. (2015). Influence of beta-blockers on endothelial function: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Cardiol. J.*
281. Peterson Lysle H., Jensen Roderick E., and Parnell John (1960). Mechanical Properties of Arteries in Vivo. *Circ. Res.* *8*, 622–639.
282. Pohl, U., Holtz, J., Busse, R., and Bassenge, E. (1986). Crucial role of endothelium in the vasodilator response to increased flow in vivo. *Hypertens. Dallas Tex* 1979 *8*, 37–44.
283. Prenner, S.B., and Chirinos, J.A. (2015). Arterial stiffness in diabetes mellitus. *Atherosclerosis* *238*, 370–379.
284. Puissant, C., Abraham, P., Durand, S., Humeau-Heurtier, A., Faure, S., Leftheriotis, G., and Mahé, G. (2014a). Assessment of endothelial function by acetylcholine iontophoresis: impact of inter-electrode distance and electrical cutaneous resistance. *Microvasc. Res.* *93*, 114–118.
285. Puissant, C., Abraham, P., Durand, S., Humeau-Heurtier, A., Faure, S., Rousseau, P., and Mahé, G. (2014b). La fonction endothéliale : rôle, méthodes d'évaluation et limites. </data/revues/03980499/v39i1/S0398049913003673/>.
286. Ragueneau, I., Laveille, C., Jochemsen, R., Resplandy, G., Funck-Brentano, C., and Jaillon, P. (1998). Pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of the effects of

- ivabradine, a direct sinus node inhibitor, on heart rate in healthy volunteers. *Clin. Pharmacol. Ther.* *64*, 192–203.
287. Reil, J.-C., Hohl, M., Reil, G.-H., Granzier, H.L., Kratz, M.T., Kazakov, A., Fries, P., Müller, A., Lenski, M., Custodis, F., et al. (2013). Heart rate reduction by If-inhibition improves vascular stiffness and left ventricular systolic and diastolic function in a mouse model of heart failure with preserved ejection fraction. *Eur. Heart J.* *34*, 2839–2849.
288. Reymond, P., Merenda, F., Perren, F., Rüfenacht, D., and Stergiopoulos, N. (2009). Validation of a one-dimensional model of the systemic arterial tree. *Am. J. Physiol.-Heart Circ. Physiol.* *297*, H208–H222.
289. Rimoldi, S.F., Messerli, F.H., Cerny, D., Gloekler, S., Traupe, T., Laurent, S., and Seiler, C. (2016). Selective Heart Rate Reduction With Ivabradine Increases Central Blood Pressure in Stable Coronary Artery Disease. *Hypertens. Dallas Tex 1979* *67*, 1205–1210.
290. Rubinshtein, R., Kuvin, J.T., Soffler, M., Lennon, R.J., Lavi, S., Nelson, R.E., Pumper, G.M., Lerman, L.O., and Lerman, A. (2010). Assessment of endothelial function by non-invasive peripheral arterial tonometry predicts late cardiovascular adverse events. *Eur. Heart J.* *31*, 1142–1148.
291. Sa Cunha, R., Pannier, B., Benetos, A., Siché, J.P., London, G.M., Mallion, J.M., and Safar, M.E. (1997). Association between high heart rate and high arterial rigidity in normotensive and hypertensive subjects. *J. Hypertens.* *15*, 1423–1430.
292. Safar, M.E. (2017). Arterial stiffness as a risk factor for clinical hypertension. *Nat. Rev. Cardiol.*
293. Safar, M.E., O'Rourke, M., and Frohlich, E.D. (2014). *Blood Pressure and Arterial Wall Mechanics in Cardiovascular Diseases* (London: Springer-Verlag).
294. Salvucci, F.P., Schiavone, J., Craiem, D., and Barra, J.G. (2007). Arterial wall mechanics as a function of heart rate: role of vascular smooth muscle. *J. Phys. Conf. Ser.* *90*, 012010.
295. Sandoval, Y.-H.G., Atef, M.E., Levesque, L.-O., Li, Y., and Anand-Srivastava, M.B. (2014). Endothelin-1 signaling in vascular physiology and pathophysiology. *Curr. Vasc. Pharmacol.* *12*, 202–214.
296. Santana, D.B., Barra, J.G., Grignola, J.C., Ginés, F.F., and Armentano, R.L. (2005). Pulmonary artery smooth muscle activation attenuates arterial dysfunction during acute pulmonary hypertension. *J. Appl. Physiol.* *98*, 605–613.
297. Savelieva, I., and Camm, A.J. (2006). *Heart Rate Slowing by If Current Inhibition* (Basel: Karger).
298. Schiffrin, E.L. (2004). Remodeling of resistance arteries in essential hypertension and effects of antihypertensive treatment. *Am. J. Hypertens.* *17*, 1192–1200.
299. Schmitt, M., Avolio, A., Qasem, A., McEniery, C.M., Butlin, M., Wilkinson, I.B., and Cockcroft, J.R. (2005). Basal NO locally modulates human iliac artery function in vivo. *Hypertens. Dallas Tex 1979* *46*, 227–231.
300. Schrör, K. (1993). The effect of prostaglandins and thromboxane A₂ on coronary vessel tone--mechanisms of action and therapeutic implications. *Eur. Heart J.* *14 Suppl I*, 34–41.
301. Schwerdt, H., Constantinesco, A., and Chambron, J. (1980). Dynamic viscoelastic

- behaviour of the human tendon in vitro. *J. Biomech.* 13, 913–922.
302. Sciatti, E., Vizzardi, E., Castiello, A., Valentini, F., Bonadei, I., Gelsomino, S., Lorusso, R., and Metra, M. (2018). The role of type 2 diabetes mellitus on hypertensive-related aortic stiffness. *Echocardiography* 35, 798–803.
 303. Seals, D.R., Jablonski, K.L., and Donato, A.J. (2011). Aging and vascular endothelial function in humans. *Clin. Sci. Lond. Engl.* 1979 120, 357–375.
 304. Seals, D.R., Kaplon, R.E., Gioscia-Ryan, R.A., and LaRocca, T.J. (2014). You're Only as Old as Your Arteries: Translational Strategies for Preserving Vascular Endothelial Function with Aging. *Physiology* 29, 250–264.
 305. Seddon, M., Melikian, N., Dworakowski, R., Shabeeh, H., Jiang, B., Byrne, J., Casadei, B., Chowienczyk, P., and Shah, A.M. (2009). Effects of neuronal nitric oxide synthase on human coronary artery diameter and blood flow in vivo. *Circulation* 119, 2656–2662.
 306. Segers, P., Rabben, S.I., De Backer, J., De Sutter, J., Gillebert, T.C., Van Bortel, L., and Verdonck, P. (2004). Functional analysis of the common carotid artery: relative distension differences over the vessel wall measured in vivo. *J. Hypertens.* 22, 973–981.
 307. Sehgel, N.L., Sun, Z., Hong, Z., Hunter, W.C., Hill, M.A., Vatner, D.E., Vatner, S.F., and Meininger, G.A. (2015). Augmented vascular smooth muscle cell stiffness and adhesion when hypertension is superimposed on aging. *Hypertens. Dallas Tex* 1979 65, 370–377.
 308. Sell, D.R., and Monnier, V.M. (2012). Molecular basis of arterial stiffening: role of glycation - a mini-review. *Gerontology* 58, 227–237.
 309. Shabeeh, H., Seddon, M., Brett, S., Melikian, N., Casadei, B., Shah, A.M., and Chowienczyk, P. (2013). Sympathetic activation increases NO release from eNOS but neither eNOS nor nNOS play an essential role in exercise hyperemia in the human forearm. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 304, H1225-1230.
 310. Shau, Y.W., Wang, C.L., Shieh, J.Y., and Hsu, T.C. (1999). Noninvasive assessment of the viscoelasticity of peripheral arteries. *Ultrasound Med. Biol.* 25, 1377–1388.
 311. Shigetoh, Y., Adachi, H., Yamagishi, S., Enomoto, M., Fukami, A., Otsuka, M., Kumagae, S., Furuki, K., Nanjo, Y., and Imaizumi, T. (2009). Higher heart rate may predispose to obesity and diabetes mellitus: 20-year prospective study in a general population. *Am. J. Hypertens.* 22, 151–155.
 312. Simon, L., Ghaleh, B., Puybasset, L., Giudicelli, J.F., and Berdeaux, A. (1995). Coronary and hemodynamic effects of S 16257, a new bradycardic agent, in resting and exercising conscious dogs. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 275, 659–666.
 313. Stefanadis, null, Dernellis, null, Tsiamis, null, Stratos, null, Diamantopoulos, null, and Toutouzas, null (2000). Influence of Aortic Elastic Properties on Pulse Pressure Changes Induced by Rapid Ventricular Pacing. *Int. J. Angiol. Off. Publ. Int. Coll. Angiol. Inc* 9, 34–38.
 314. Stefanadis, C., Stratos, C., Vlachopoulos, C., Marakas, S., Boudoulas, H., Kallikazaros, I., Tsiamis, E., Toutouzas, K., Sioros, L., and Toutouzas, P. (1995). Pressure-diameter relation of the human aorta. A new method of determination by the application of a special ultrasonic dimension catheter. *Circulation* 92, 2210–2219.
 315. Stefanadis, C., Dernellis, J., Vlachopoulos, C., Tsioufis, C., Tsiamis, E., Toutouzas, K., Pitsavos, C., and Toutouzas, P. (1997). Aortic Function in Arterial Hypertension

- Determined by Pressure-Diameter Relation Effects of Diltiazem. *Circulation* 96, 1853–1858.
316. Stefanadis, C., Dernellis, J., Vavuranakis, M., Tsiamis, E., Vlachopoulos, C., Toutouzas, K., Diamandopoulos, L., Pitsavos, C., and Toutouzas, P. (1998). Effects of ventricular pacing-induced tachycardia on aortic mechanics in man. *Cardiovasc. Res.* 39, 506–514.
 317. Sun, H., Zhong, M., Miao, Y., Ma, X., Gong, H.-P., Tan, H.-W., Zhang, Y., and Zhang, W. (2009). Impaired Elastic Properties of the Aorta in Fat-Fed, Streptozotocin-Treated Rats. *Cardiology* 114, 107–113.
 318. Swedberg, K., Komajda, M., Böhm, M., Borer, J.S., Ford, I., Dubost-Brama, A., Lerebours, G., Tavazzi, L., and SHIFT Investigators (2010). Ivabradine and outcomes in chronic heart failure (SHIFT): a randomised placebo-controlled study. *Lancet* 376, 875–885.
 319. Taddei, S., Viridis, A., Mattei, P., Arzilli, F., and Salvetti, A. (1992). Endothelium-dependent forearm vasodilation is reduced in normotensive subjects with familial history of hypertension. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 20 Suppl 12, S193-195.
 320. Taddei, S., Viridis, A., Ghiadoni, L., Salvetti, G., Bernini, G., Magagna, A., and Salvetti, A. (2001). Age-Related Reduction of NO Availability and Oxidative Stress in Humans. *Hypertension* 38, 274–279.
 321. Tan, H.-J., Saliba, D., Kwan, L., Moore, A.A., and Litwin, M.S. (2016a). Burden of Geriatric Events Among Older Adults Undergoing Major Cancer Surgery. *J. Clin. Oncol.* 34, 1231–1238.
 322. Tan, I., Butlin, M., Liu, Y.Y., Ng, K., and Avolio, A.P. (2012). Heart Rate Dependence of Aortic Pulse Wave Velocity at Different Arterial Pressures in Rats. *Hypertension* 60, 528–533.
 323. Tan, I., Spronck, B., Kiat, H., Barin, E., Reesink, K.D., Delhaas, T., Avolio, A.P., and Butlin, M. (2016b). Heart Rate Dependency of Large Artery Stiffness. *Hypertens. Dallas Tex* 1979 68, 236–242.
 324. Tanaka, H., Dinunno, F.A., Monahan, K.D., Clevenger, C.M., DeSouza, C.A., and Seals, D.R. (2000). Aging, habitual exercise, and dynamic arterial compliance. *Circulation* 102, 1270–1275.
 325. Tanaka, N., Nozawa, T., Yasumura, Y., Futaki, S., Hiramori, K., and Suga, H. (1990). Heart-rate-proportional oxygen consumption for constant cardiac work in dog heart. *Jpn. J. Physiol.* 40, 503–521.
 326. Tardif, J.-C., O'Meara, E., Komajda, M., Böhm, M., Borer, J.S., Ford, I., Tavazzi, L., Swedberg, K., and SHIFT Investigators (2011). Effects of selective heart rate reduction with ivabradine on left ventricular remodelling and function: results from the SHIFT echocardiography substudy. *Eur. Heart J.* 32, 2507–2515.
 327. Tardy, Y., Meister, J.J., Perret, F., Brunner, H.R., and Arditi, M. (1991). Non-invasive estimate of the mechanical properties of peripheral arteries from ultrasonic and photoplethysmographic measurements. *Clin. Phys. Physiol. Meas.* 12, 39.
 328. Tedgui, A., and Lévy, B. (1994). *Biologie de la paroi artérielle: aspects normaux et pathologiques* (Masson).
 329. Tentolouris, N., Liatis, S., Moysakis, I., Tsapogas, P., Psallas, M., Diakoumopoulou,

- E., Votaw, V., and Katsilambros, N. (2003). Aortic distensibility is reduced in subjects with type 2 diabetes and cardiac autonomic neuropathy. *Eur. J. Clin. Invest.* *33*, 1075–1083.
330. The Reference Values for Arterial Stiffness', T.R.V. for A.S. (2010). Determinants of pulse wave velocity in healthy people and in the presence of cardiovascular risk factors: 'establishing normal and reference values.' *Eur. Heart J.* *31*, 2338–2350.
331. Thomas, F., Rudnichi, A., Bacri, A.M., Bean, K., Guize, L., and Benetos, A. (2001a). Cardiovascular mortality in hypertensive men according to presence of associated risk factors. *Hypertens. Dallas Tex 1979* *37*, 1256–1261.
332. Thomas, F., Bean, K., Provost, J.C., Guize, L., and Benetos, A. (2001b). Combined effects of heart rate and pulse pressure on cardiovascular mortality according to age. *J. Hypertens.* *19*, 863–869.
333. Tian, L., Wang, Z., Lakes, R.S., and Chesler, N.C. (2013). Comparison of approaches to quantify arterial damping capacity from pressurization tests on mouse conduit arteries. *J. Biomech. Eng.* *135*, 54504.
334. Timoshenko, S., and Goodier, J.N. (1951). *Theory of Elasticity*, by S. Timoshenko and J.N. Goodier, ... 2nd Edition (McGraw-Hill Book Company).
335. Toth, P., Tarantini, S., Csiszar, A., and Ungvari, Z. (2016). Functional vascular contributions to cognitive impairment and dementia: mechanisms and consequences of cerebral autoregulatory dysfunction, endothelial impairment, and neurovascular uncoupling in aging. *Am. J. Physiol.-Heart Circ. Physiol.* *312*, H1–H20.
336. Toutouzas, K., Stefanadis, C., Tsiamis, E., Vlachopoulos, C., Tousoulis, D., Tsioufis, C., and Toutouzas, P. (2000). Aortic pressure-diameter relation in patients with non-insulin dependent diabetes mellitus: new insights. *Diabetologia* *43*, 1070–1075.
337. Ungar, E.E., and Kerwin, E.M. (1962). Loss Factors of Viscoelastic Systems in Terms of Energy Concepts. *J. Acoust. Soc. Am.* *34*, 954–957.
338. Valdez-Jasso, D., Bia, D., Zócalo, Y., Armentano, R.L., Haider, M.A., and Olufsen, M.S. (2011). Linear and Nonlinear Viscoelastic Modeling of Aorta and Carotid Pressure–Area Dynamics Under In Vivo and Ex Vivo Conditions. *Ann. Biomed. Eng.* *39*, 1438–1456.
339. Vallance, P., Collier, J., and Moncada, S. (1989). Effects of endothelium-derived nitric oxide on peripheral arteriolar tone in man. *Lancet Lond. Engl.* *2*, 997–1000.
340. Van Guilder, G.P., Westby, C.M., Greiner, J.J., Stauffer, B.L., and DeSouza, C.A. (2007). Endothelin-1 vasoconstrictor tone increases with age in healthy men but can be reduced by regular aerobic exercise. *Hypertens. Dallas Tex 1979* *50*, 403–409.
341. Vanhoutte, P.M., Zhao, Y., Xu, A., and Leung, S.W.S. (2016). Thirty Years of Saying NO. *Circ. Res.* *119*, 375–396.
342. Vanhoutte, P.M., Shimokawa, H., Feletou, M., and Tang, E.H.C. (2017). Endothelial dysfunction and vascular disease – a 30th anniversary update. *Acta Physiol.* *219*, 22–96.
343. Vasan, R.S. (2008). Pathogenesis of elevated peripheral pulse pressure: some reflections and thinking forward. *Hypertens. Dallas Tex 1979* *51*, 33–36.
344. Vlachopoulos, C., Xaplanteris, P., Aboyans, V., Brodmann, M., Cifková, R., Cosentino, F., De Carlo, M., Gallino, A., Landmesser, U., Laurent, S., et al. (2015). The role of

- vascular biomarkers for primary and secondary prevention. A position paper from the European Society of Cardiology Working Group on peripheral circulation: Endorsed by the Association for Research into Arterial Structure and Physiology (ARTERY) Society. *Atherosclerosis* 241, 507–532.
345. Wagenseil, J.E., and Mecham, R.P. (2009). Vascular extracellular matrix and arterial mechanics. *Physiol. Rev.* 89, 957–989.
346. Wang, Z., and Chesler, N.C. (2012). Role of collagen content and cross-linking in large pulmonary arterial stiffening after chronic hypoxia. *Biomech. Model. Mechanobiol.* 11, 279–289.
347. Wang, Y., Zeinali-Davarani, S., Davis, E.C., and Zhang, Y. (2015). Effect of glucose on the biomechanical function of arterial elastin. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* 49, 244–254.
348. Wang, Z., Lakes, R.S., Golob, M., Eickhoff, J.C., and Chesler, N.C. (2013). Changes in Large Pulmonary Arterial Viscoelasticity in Chronic Pulmonary Hypertension. *PLoS ONE* 8.
349. Wanga, X.-F., Fullana, J.-M., Lagrée, P.-Y., and Armentano, R.L. (2013). Effect of viscoelasticity of arterial wall on pulse wave: a comparative study on ovine. *Comput. Methods Biomech. Biomed. Engin.* 16 *Suppl 1*, 25–26.
350. Weissler, A.M., Peeler, R.G., and Roehll, W.H. (1961). Relationships between left ventricular ejection time, stroke volume, and heart rate in normal individuals and patients with cardiovascular disease. *Am. Heart J.* 62, 367–378.
351. Whelton, S.P., Blankstein, R., Al-Mallah, M.H., Lima, J.A.C., Bluemke, D.A., Hundley, W.G., Polak, J.F., Blumenthal, R.S., Nasir, K., and Blaha, M.J. (2013). Association of resting heart rate with carotid and aortic arterial stiffness: multi-ethnic study of atherosclerosis. *Hypertension* 62, 477–484.
352. Wilkinson, I.B., MacCallum, H., Flint, L., Cockcroft, J.R., Newby, D.E., and Webb, D.J. (2000). The influence of heart rate on augmentation index and central arterial pressure in humans. *J. Physiol.* 525 *Pt 1*, 263–270.
353. Wilkinson, I.B., MacCallum, H., Cockcroft, J.R., and Webb, D.J. (2002a). Inhibition of basal nitric oxide synthesis increases aortic augmentation index and pulse wave velocity in vivo. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 53, 189–192.
354. Wilkinson, I.B., Mohammad, N.H., Tyrrell, S., Hall, I.R., Webb, D.J., Paul, V.E., Levy, T., and Cockcroft, J.R. (2002b). Heart rate dependency of pulse pressure amplification and arterial stiffness. *Am. J. Hypertens.* 15, 24–30.
355. Williams, A., Kenny, D., Wilson, D., Fagenello, G., Nelson, M., Dunstan, F., Cockcroft, J., Stuart, G., and Fraser, A.G. (2012). Effects of atenolol, perindopril and verapamil on haemodynamic and vascular function in Marfan syndrome - a randomised, double-blind, crossover trial. *Eur. J. Clin. Invest.* 42, 891–899.
356. Williams, B., Lacy, P.S., Thom, S.M., Cruickshank, K., Stanton, A., Collier, D., Hughes, A.D., Thurston, H., O'Rourke, M., CAFE Investigators, et al. (2006). Differential impact of blood pressure-lowering drugs on central aortic pressure and clinical outcomes: principal results of the Conduit Artery Function Evaluation (CAFE) study. *Circulation* 113, 1213–1225.
357. Williams, B., Lacy, P.S., and CAFE and the ASCOT (Anglo-Scandinavian Cardiac

- Outcomes Trial) Investigators (2009a). Impact of heart rate on central aortic pressures and hemodynamics: analysis from the CAFE (Conduit Artery Function Evaluation) study: CAFE-Heart Rate. *J. Am. Coll. Cardiol.* *54*, 705–713.
358. Williams, B., Mancia, G., Spiering, W., Agabiti Rosei, E., Azizi, M., Burnier, M., Clement, D.L., Coca, A., de Simone, G., Dominiczak, A., et al. (2018). 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension. *Eur. Heart J.* *39*, 3021–3104.
359. Williams, C., Liao, J., Joyce, E.M., Wang, B., Leach, J.B., Sacks, M.S., and Wong, J.Y. (2009b). Altered structural and mechanical properties in decellularized rabbit carotid arteries. *Acta Biomater.* *5*, 993–1005.
360. Wils, J., Djerada, Z., Roca, F., Duflo, T., Iacob, M., Remy-Jouet, I., Joannides, R., and Bellien, J. (2018). Alteration in the availability of epoxyeicosatrienoic acids contributes with NO to the development of endothelial dysfunction in conduit arteries during aging. *Atherosclerosis* *275*, 239–245.
361. Wolinsky, H., and Glagov, S. (1967). A lamellar unit of aortic medial structure and function in mammals. *Circ. Res.* *20*, 99–111.
362. Wurzel, M., Cowper, G.R., and McCook, J.M. (1970). Smooth muscle contraction and viscoelasticity of arterial wall. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* *48*, 510–523.
363. Xiao, H., Tan, I., Butlin, M., Li, D., and Avolio, A.P. (2017). Arterial viscoelasticity: role in the dependency of pulse wave velocity on heart rate in conduit arteries. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* *312*, H1185–H1194.
364. Yamashita, J., Li, X., Furman, B.R., Rawls, H.R., Wang, X., and Agrawal, C.M. (2002). Collagen and bone viscoelasticity: a dynamic mechanical analysis. *J. Biomed. Mater. Res.* *63*, 31–36.
365. Yang, C., Yang, J., Xu, X., Yan, S., Pan, S., Pan, X., Zhang, C., and Leung, G.P. (2014). Vasodilatory effect of 14,15-epoxyeicosatrienoic acid on mesenteric arteries in hypertensive and aged rats. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* *112*, 1–8.
366. Yeung, A.C., Vekshtein, V.I., Krantz, D.S., Vita, J.A., Ryan, T.J., Ganz, P., and Selwyn, A.P. (1991). The effect of atherosclerosis on the vasomotor response of coronary arteries to mental stress. *N. Engl. J. Med.* *325*, 1551–1556.
367. Zeiher, A.M., Drexler, H., Saurbier, B., and Just, H. (1993). Endothelium-mediated coronary blood flow modulation in humans. Effects of age, atherosclerosis, hypercholesterolemia, and hypertension. *J. Clin. Invest.* *92*, 652–662.
368. Zhang, J., and Friedman, M.H. (2012). Adaptive response of vascular endothelial cells to an acute increase in shear stress magnitude. *Am. J. Physiol. - Heart Circ. Physiol.* *302*, H983–H991.
369. Zhang, J., and Friedman, M.H. (2013). Adaptive response of vascular endothelial cells to an acute increase in shear stress frequency. *AJP Heart Circ. Physiol.* *305*, H894–H902.
370. Zhang, L., Yin, J.-K., Duan, Y.-Y., Liu, X., Xu, L., Wang, J., Yang, Y.-L., Yuan, L.-J., and Cao, T.-S. (2014). Evaluation of carotid artery elasticity changes in patients with type 2 diabetes. *Cardiovasc. Diabetol.* *13*, 39.
371. Zhou, J., Li, Y.-S., and Chien, S. (2014). Shear Stress–Initiated Signaling and Its Regulation of Endothelial Function. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* *34*, 2191–2198.
372. Zou, Y., and Zhang, Y. (2012). The Biomechanical Function of Arterial Elastin in

Solutes. *J. Biomech. Eng.* 134, 071002–071002.