



HAL
open science

Rôle de la maladie des petits vaisseaux dans la physiopathologie de l'insuffisance cardiaque

Paul Rouault

► **To cite this version:**

Paul Rouault. Rôle de la maladie des petits vaisseaux dans la physiopathologie de l'insuffisance cardiaque. Médecine humaine et pathologie. Université de Bordeaux, 2023. Français. NNT : 2023BORD0269 . tel-04390588

HAL Id: tel-04390588

<https://theses.hal.science/tel-04390588v1>

Submitted on 12 Jan 2024

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 PRESENTEE POUR OBTENIR LE GRADE DE
DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE BORDEAUX**

ECOLE DOCTORALE : n°154 Sciences de la vie et de la santé

SPECIALITE : Biologie cellulaire et physiopathologie

**Rôle de la maladie des petits vaisseaux dans la physiopathologie de
l'insuffisance cardiaque**

Par Paul ROUAULT

Sous la direction de : Marie-Ange RENAULT

Soutenue le 27 octobre 2023

Membres du jury :

M. ARNAL Jean-François, Professeur, Université de Toulouse	Président du Jury
M. BENOIST David, Maitre de conférences, Université de Bordeaux	Examineur
Mme HORMAN Sandrine, Professeure, Université de Louvain	Rapporteuse
M. MULDER Paul, Professeur, Université de Rouen	Rapporteur
Mme RENAULT Marie-Ange, Chargée de recherche, Université de Bordeaux	Directrice de thèse

Remerciements

Aux membres du jury de thèse : je vous suis très reconnaissant de prendre part à l'évaluation de mon projet de thèse. Je remercie plus particulièrement le Pr. Jean-François Arnal d'avoir accepté le rôle de président du jury. Les Pr. Sandrine Horman et Paul Mulder d'avoir accepté d'être rapporteurs de ce travail dont je l'espère l'introduction ne sera pas trop longue à lire. Enfin, je remercie de Dr. David Benoist pour ses précieux conseils lors de l'analyse des cardiomyocytes, et d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Je tiens à remercier le **Pr Thierry Couffignal** de m'avoir accueilli au laboratoire U1034, cela a été un réel plaisir d'y travailler pendant ces trois dernières années.

À l'équipe CANGAGE (la meilleure) : Marie-Ange, Candice, Alain, Laurianne, Pierre, Ninon, Margaux, Célia, Virginie, Sylvain et Maxime. Merci pour ces bons moments partagés tous ensemble autour d'une bière, un BBQ ou dans le bureau.

- **Marie-Ange**, je tiens à te remercier pour m'avoir donné de précieux conseils, réussi à canaliser mes idées et bien sûr accordé ta confiance.

- **Cancan**, merci pour ton soutien, tes conseils et les moments partagés autour d'un verre.

- **Alain**, vos conseils avisés lors des séminaires d'unité, m'auront permis de progresser et de faire mûrir ce projet de thèse.

- **Pierre**, merci d'avoir été un bon co-thésard et d'avoir partagé en même temps que moi la douleur de l'écriture de la thèse, d'avoir toujours été partant pour aller au grenier et d'être l'inventeur de la fameuse cocaïne pour plantes.

- **Lolo**, merci d'avoir été ma secrétaire pendant ces trois années de thèse. Tu es maintenant relevée de tes fonctions ! Plus sérieusement, merci pour tes conseils en tant que coéquipière de la team cœur et tous ces bons moments partagés à tes côtés au labo ou en congrès à Boston et Amsterdam.

- **Ninon**, qui va te tenir compagnie lors des longues soirées de travail maintenant ? Merci d'être toujours à l'écoute et pour ta bienveillance.

- **Margaux**, j'espère que tu feras bon usage de mon canapé Ahah. Merci pour tout !

- **Célia** et **Virginie**, merci à toutes les 2 d'avoir supporté mes blagues, je vous souhaite le meilleur pour la fin de vos thèses (même si je n'ai aucun doute là-dessus).

- **Sylvain** et **Maxime**, merci à tous les 2 pour les moments passés ensemble et votre travail essentiel dans un projet de thèse comme le mien !

A la team DUPLAA : Valoche, Juju, Romain, Sozic, Marie-Lise, Claire. Avouez que mon passage dans vos bureaux et vos labos vont vous manquer ! Merci à tous pour les moments d'échange à vos côtés !

- **Valoche**, je suis sûr que tu vas réussir à faire tout ce que tu as prévu dans ta dernière année de thèse et que tu vas faire un beau papier ! Tu as été une belle rencontre, merci pour tous ces moments partagés au labo ou en dehors du labo pendant ces 3 ans !

- **Juju, ML, Soiz, Romain**, merci de m'avoir accueilli trop souvent dans votre bureau, de m'avoir nourri et pour tous les moments de rigolade que l'on a passés ensemble !

À la team JAMES, certes, vous êtes au rez-de-chaussée un peu moins classe que l'étage, mais on vous aime quand même Ahah

- **Philippe** ou devrais-je dire « Ciseaux d'Or », avoue que nos longues journées de pression vont te manquer ... Plus sérieusement merci pour tout, ta gentillesse, ta passion commune pour le sport et bien entendu ton énorme contribution à mon projet de thèse.

- **Annabel**, merci de m'avoir intégré au début de ma thèse et d'avoir toujours été bienveillante envers moi.

- **Geoffrey** (team secret story) et **Mélo** merci pour tout !

- **Omar** merci pour ta gentillesse et ta bonne humeur.

- **Carole**, merci d'avoir organisé toutes ces journées chez toi et d'avoir réparé l'accès au serveur la veille de ma thèse.

À tous les autres membres de l'U1034, je ne vous oublie pas et vous remercie tous pour ces 3 années à vos côtés.

À mes amis du Grand Est et de Bordeaux, nul besoin de vous citer vous vous reconnaîtrez ! Merci de me soutenir et pour tous les bons moments que l'on passe ensemble !

Merci à ma famille (mon frère, ma sœur, mes parents et ma grand-mère) et à **ma belle-famille** pour avoir affronté la pluie à chaque fois ou presque qu'ils sont venus me voir (oui, il pleut souvent à Bordeaux ahah) et avoir fait le déplacement du Grand Est pour assister à ma soutenance. Je les remercie également de toujours me soutenir dans ce que j'entreprends.

Sharky, pas besoin de mots, tu sais déjà tout ! (Merci quand même de me supporter au quotidien Ahah)

Table des matières

I. INTRODUCTION	20
1) Anatomie cardiaque	20
a) Localisation	20
b) Cavités cardiaques	20
c) Valves cardiaques	21
1. Valves auriculo-ventriculaires	22
2. Valves sigmoïdes	22
d) Circulation coronaire	22
1. Structure des artères et veines coronaires	23
2. Capillaires	25
e) Structure de la paroi cardiaque	26
1. Le cardiomyocyte	26
a. Le sarcomère	27
b. Filaments épais	27
c. Filaments fins	28
d. Titine et compliance du cardiomyocyte	28
i. Structure de la titine	28
ii. Isoformes de titine	29
iii. Régulation passive de la rigidité du cardiomyocyte	30
e. Le réticulum sarcoplasmique et contractilité du cardiomyocyte	30
Régulation active de la force du cardiomyocyte	31
f. Le sarcolemme	31
2. Couplage excitation-contraction	32
f) Cycle cardiaque	33
1. Relaxation	34
2. Remplissage ventriculaire	35
3. Systole ventriculaire	35
2) Techniques d'évaluation de la fonction cardiaque	36
a) Échographie	36

b)	Electrocardiogramme	37
c)	Cathétérisme droit - gauche.....	37
3)	L'insuffisance cardiaque	38
a)	Généralités	38
1.	Épidémiologie.....	38
2.	Définition.....	38
3.	Classification.....	39
a.	Insuffisance cardiaque chronique ou aiguë.....	39
b.	Classifications ACC/AHA et NYHA.....	39
c.	Classification échographique selon la fraction d'éjection ventriculaire gauche (FEVG).....	41
b)	L'insuffisance cardiaque à fraction d'éjection préservée.....	41
1.	Épidémiologie.....	41
2.	Physiopathologie	42
a.	Dysfonction diastolique.....	42
b.	Fonctions cardiomyocytaires altérées.....	43
i.	Hypertrophie cardiomyocytaire	43
ii.	Modulation de la titine.....	45
iii.	Altération de la contractilité	45
c.	Remodelage de la matrice extracellulaire.....	46
d.	Inflammation de bas grade	47
e.	Dysfonction endothéliale	48
f.	Conclusion physiopathologie de l'ICFep.....	49
3.	Facteurs de risque	50
a.	Épidémiologie des facteurs de risque associés à l'ICFep.....	50
b.	Lien entre comorbidités et ICFep	52
i.	HTA	53
ii.	Le diabète de type 2	55
iii.	Obésité	57
iv.	Fibrillation atriale (FA).....	58
v.	Insuffisance rénale chronique	60
vi.	Le vieillissement	62

vii.	Sexe féminin	64
c.	Stratification par phénogroupes	66
i.	Phenotype « Vieillissement vasculaire »	66
ii.	Phénotype « métabolique, obèse »	67
iii.	Phénotype « Relativement jeune avec un déficit en peptides natriurétiques ».....	68
d.	Conclusion	68
4.	Diagnostic de l'ICFEP	69
a.	Algorithme HFA-PEFF	69
i.	Etape de pré-test.....	70
ii.	Etape E.....	70
iii.	Etape F1	71
iv.	Etape F2	71
b.	Diagnostic clinique.....	71
c.	Diagnostic biologique	71
i.	Bilan sanguin.....	71
ii.	Dosage des peptides natriurétiques circulants	72
5.	Traitements de l'ICFEP.....	73
a.	Éducation des patients	73
b.	Management des comorbidités	73
c.	Essais thérapeutiques.....	73
Inhibiteurs du SGLT2.....	75	
6.	Conclusion	77
a)	Cellules endothéliales.....	77
b)	Perméabilité	78
1.	Les jonctions adhérentes.....	79
2.	Les jonctions serrées	80
3.	Jonctions communicantes	80
c)	Vasomotricité	81
1.	Vasodilatateurs.....	81
a.	NO.....	81
b.	Autres agents vasodilatateurs.....	82

2.	Vasoconstricteurs	82
d)	Adhésion et transport de cellules inflammatoires	83
e)	Maintien de la fluidité sanguine	84
1.	Surface hémocompatible et thromborésistante	84
a.	Hémostase primaire	85
i.	Temps vasculaire	85
ii.	Temps plaquettaire	85
iii.	Contrôle endothélial de l'hémostase primaire	87
b.	Coagulation plasmatique.....	88
i.	Voie extrinsèque.....	89
ii.	Contrôle par l'endothélium	90
iii.	Voie intrinsèque	90
iv.	Contrôle par l'endothélium	91
c.	Fibrinolyse	92
f)	Conclusion	92
4)	Dysfonction vasculaire et ICfEp	93
a)	Altération de la fonction des cardiomyocytes par les CE	93
1.	Défaut d'apport en oxygène/nutriments	94
a.	Raréfaction capillaire/défaut d'angiogenèse	94
b.	Défaut de vasomotricité	95
c.	Thrombose.....	95
2.	Défaut de fonction paracrine	96
a.	Libération de NO	96
b.	Libération d'autres médiateurs	97
c.	Signalisation Redox.....	98
3.	Modification du microenvironnement cardio-myocytaire.....	99
a.	Perméabilité et œdème.....	99
b.	Fibrose	100
c.	Inflammation	100
d.	Conclusion	101

b)	Preuves expérimentales du rôle de la dysfonction endothéliale dans la survenue de la dysfonction diastolique	102
5)	Associations entre thrombose et facteurs de risque de l'ICFEP	105
a)	HTA	108
1.	Modulation de l'hémostase primaire.....	108
2.	Modulation de la coagulation plasmatique.....	108
3.	Modulation de la fibrinolyse	108
b)	Le diabète de type 2	109
1.	Modulation de l'hémostase primaire.....	109
2.	Modulation de la coagulation plasmatique.....	109
3.	Modulation de la fibrinolyse	110
4.	Traitements antidiabétiques et thrombose	110
c)	Obésité	112
1.	Modulation de l'hémostase primaire.....	112
2.	Modulation de la coagulation plasmatique.....	112
3.	Modulation de la fibrinolyse	113
d)	Fibrillation atriale	113
1.	Classification du risque thrombotique avec FA.....	113
2.	Modulation de l'hémostase primaire.....	114
3.	Modulation de la coagulation plasmatique.....	115
4.	Modulation de la fibrinolyse	115
e)	Vieillessement	115
1.	Modulation de l'hémostase primaire.....	115
2.	Modulation de la coagulation plasmatique.....	116
3.	Modulation de la fibrinolyse	116
6)	Association entre ICFEP et thrombose	117
a)	Modulation de l'hémostase primaire.....	117
1.	Hyperactivation/agrégation plaquettaire	117
2.	Protéome plaquettaire modifié.....	118
3.	Modulation de la fibrinolyse	119
b)	Neutrophiles et NETs.....	119

c)	Mastocytes	120
d)	Traitements antithrombotiques et ICfEp.....	121
e)	Conclusion	123
7)	Voie de signalisation Hh	124
a)	Synthèse des ligands	124
b)	Signalisation cellulaire	125
1.	Voie canonique.....	126
2.	Voie non canonique.....	128
a.	Voie non canonique de type 1.....	128
b.	Voie non canonique de type 2.....	129
c)	Signalisation Hh dans la cellule endothéliale	129
d)	Régulation de la voie Hedgehog.....	130
1.	Régulateur négatif de la voie Hedgehog	130
HHIP.....		130
2.	Régulateurs positifs de la voie Hedgehog	131
a.	BOC et CDON	131
b.	GAS 1	132
c.	HHIPL1	132
e)	Rôle de la voie Hh dans le système cardiovasculaire	133
1.	Voie Hh et cœur.....	133
a.	Développement cardiaque	133
b.	Cœur adulte	134
2.	Voie Hh et vaisseaux.....	134
3.	Voie Hh et métabolisme	135
f)	La voie Hedgehog en contexte pathologique.....	135
1.	Cancers	137
2.	Pathologies ischémiques	138
3.	Diabète	139
4.	Vieillesse	140
5.	Inflammation	141
g)	Conclusion	141

II. OBJECTIF/RATIONNEL.....	142
III. MATÉRIELS ET MÉTHODES	144
1) Modèles murins diabétiques.....	144
a) Lepr ^{db/db}	144
b) Régime HFD/STZ.....	144
2) Souris transgéniques pour la voie Hedgehog.....	145
a) Souris déficientes pour DHH (Dhh ^{ECKO})	145
b) Souris déficientes pour SMO (Smo ^{ECKO})	146
c) Souris déficientes pour SMO dans les cardiomyocytes (SMO ^{CMKO}).....	147
d) Souris déficientes pour Hhip1	147
3) Hébergement.....	148
4) Thérapie antiagrégante	148
5) Mesure de la fonction cardiaque	149
a) Test d'effort des souris Lepr ^{db/db}	149
6) Coloration histologique au bleu de toluidine.....	149
IV. RESULTATS.....	150
1) Identification de nouveaux acteurs de la dysfonction endothéliale dans le cœur des souris Lepr ^{db/db}	150
2) Rôle d'Hhip1 dans le cœur	150
3) Impact d'un défaut de DHH sur les vaisseaux coronaires, les cardiomyocytes et la fonction cardiaque.....	152
a) Impact d'un défaut de DHH sur la fonction cardiaque.....	152
b) Impact d'un défaut de DHH sur le phénotype vasculaire	153
c) Impact du défaut de DHH sur le phénotype des cardiomyocytes.....	153
d) Défaut de signalisation autocrine.....	153
e) Impact de l'hypoxie sur le phénotype des cardiomyocytes	154
f) Impact de la microthrombose sur la fonction cardiaque chez les souris Dhh ^{ECKO}	154
4) Rôle de la thrombose dans le développement de la dysfonction diastolique des souris Lepr ^{db/db}	156
a) Impact du DT2 et de l'obésité sur la thrombose cardiaque	156
b) Impact de la microthrombose sur la fonction cardiaque chez les souris Lepr ^{db/db}	156

1.	Effet d'une thérapie curative antiagrégante sur la fonction diastolique chez les Lepr ^{db/db}	157
2.	Impact du traitement curatif antiagrégant sur le phénotype vasculaire	158
3.	Impact de la thérapie curative antiagrégante sur la fonction diastolique	160
c)	Place de la micro-thrombose par rapport à l'activation mastocytaire dans le modèle Lepr ^{db/db}	161
5)	Article	164
V.	DISCUSSION	211
VI.	LIMITES ET PERSPECTIVES	217
VII.	BIBLIOGRAPHIE	218
VIII.	Publications, présentations orales et poster	290
1)	Publications	290
2)	Présentations orales/posters	291

Table des tableaux

Tableau 1 : Différences structurelles entre artère et veine	25
Tableau 2 : Stades de progression de l'IC selon les classifications NYHA et ACC/AHA	40
Tableau 3 : Epidémiologie de l'ICFEp et de ses facteurs de risque associés	52
Tableau 4 : Critères mineurs et majeurs du score établi lors de l'étape E de l'algorithme HFA-PEFF	70
Tableau 5 : Essais cliniques dans l'ICFEp	74
Tableau 6 : Contrôle de l'hémostase par l'endothélium	88
Tableau 7 : Modèles rongeurs avec cellules endothéliales modifiées induisant une dysfonction diastolique	103
Tableau 8 : Modulation de l'hémostase dans les facteurs de risque associés à l'ICFEp	107
Tableau 9 : Traitements antidiabétiques et hémostase	111
Tableau 10 : Score CHA2DS2VASC	114
Tableau 11 : Modulation de l'hémostase dans l'ICFEp	118
Tableau 12 : Etudes cliniques sur le bénéfice d'un traitement antithrombotique dans l'IC	123
Tableau 13 : Modulations de la voie Hedgehog en contexte pathologique	136
Tableau 14 : Molécules ciblant la voie Hedgehog	138
Tableau 15 : Protocole du test d'effort pour souris Lepr ^{db/db}	149

Table des figures

Figure 1: Anatomie cardiaque	21
Figure 2 : Comparaison structurelle artère et artériole	24
Figure 3 : Structure d'un capillaire	25
Figure 4 : Structure d'un sarcomère	27
Figure 5: Schéma représentatif des isoformes de la titine au sein d'un sarcomère	29
Figure 6 : Courbe force-extension des isoformes de la titine et effets de la phosphorylation sur la tension passive.	30
Figure 7 : Structures impliquées dans le cycle du calcium cardiomyocytaire	33
Figure 8 : Relation pression-volume et cycle cardiaque (diagramme de Wigger)	34
Figure 9 : Échographie doppler mitral et remplissage	36
Figure 10 : Courbe pression-volume	37
Figure 11 : Stades de l'insuffisance cardiaque diastolique en doppler transmitral	43
Figure 12 : Incidence du remodelage cardiaque dans l'ICFEp	44
Figure 13: Physiopathologie de l'ICFEp	44
Figure 14 : Prévalence des comorbidités dans la population générale et dans l'ICFEp	50
Figure 15 : Physiopathologie de la dysfonction diastolique du VG secondaire à une HTA	53
Figure 16 : Effets de l'angiotensine II sur le remodelage vasculaire et la constriction/vasodilatation.	54
Figure 17 : Physiopathologie du diabète dans l'ICFEp	56
Figure 18 : Physiopathologie de l'association entre obésité et ICFEp	57

Figure 19 : Physiopathologie entre FA et ICFEp	59
Figure 20 Mécanismes pathologiques qui sous-tendent la progression de l'insuffisance rénale chronique vers l'ICFEp	61
Figure 21 : Proportion de patients atteints d'ICFEp et ICFEr rapporté à l'âge	62
Figure 22 : Nombre de comorbidités chroniques par tranche d'âge	63
Figure 23 : Prévalence de l'ICFEp selon l'âge et le sexe	64
Figure 24 : Lien entre facteurs de risques et ICFEp	65
Figure 25 : Possible classification en 3 grands phénotypes des patients atteints d'ICFEp	67
Figure 26 : Algorithme HFA-PFEF	69
Figure 27 : Mécanisme moléculaire de l'effet des inhibiteurs du SLT2 Mécanisme moléculaire de l'effet des inhibiteurs du SLT2	76
Figure 28 : Fonctions physiologiques des CE.....	78
Figure 29 : Différents types de jonctions entre CE.....	79
Figure 30 : Cascade d'adhésion leucocytaire	84
Figure 31 : Schéma de l'hémostase physiologique	86
Figure 32 : Voie intrinsèque et extrinsèque	89
Figure 33 : Effets de la thrombine sur la régulation de l'hémostase par les cellules endothéliales	91
Figure 34 : Communication cellule endothéliale — cardiomyocyte	94
Figure 35 : Mécanismes expliquant le lien entre la dysfonction endothéliale et la modification du phénotype des cardiomyocytes	102
Figure 36 : Facteurs de risques aux thromboses veineuses et artérielles.....	106
Figure 37 : Rôle des neutrophiles et mastocytes dans la thromboembolie veineuse	121
Figure 38 : Modification post-transcriptionnelle et sécrétion de Shh	125
Figure 39 : Séquences et domaines d'interaction des protéines GLI-1, GLI-2, GLI-3	126
Figure 40 : Voie de signalisation Hedgehog canonique.	127
Figure 41 : Voie Hedgehog non canonique	128
Figure 42 : Voie de signalisation Hedgehog et CE	130
Figure 43 : Structure des co-récepteurs BOC et CDON	131
Figure 44 : Induction de la sensibilité à l'insuline dans le tissu adipeux via la voie Hh.....	140
Figure 45 : Rationnel du projet de thèse.....	143
Figure 46 : Protocole d'induction d'un DT2 par régime HFD/STZ	145
Figure 47 : Construction génétique des souris DhhECKO.....	146
Figure 48 : Construction génétique des souris SmoECKO	146
Figure 49 : Construction génétique des souris Smo ^{CMKO}	147
Figure 50 : Construction génétique de la souris Hhip1-KO	148
Figure 51 : Fonction cardiaque souris femelles sous régime HFD/STZ.	151
Figure 52 : Stratégie antiagrégante préventive des souris Dhh ^{ECKO}	155
Figure 53 : Schéma récapitulatif du lien entre dysfonction endothéliale et dysfonction diastolique	155
Figure 54 : Stratégie antiagrégante préventive des souris Lepr ^{db/db}	156
Figure 55 : Protocole de traitement antiagrégant curatif des souris Lepr ^{db/db}	157

Figure 56 : Fonction endothéliale après traitement antiagrégant curatif (clopidogrel)	159
Figure 57 : Fonction cardiaque après traitement antiagrégant curatif. (clopidogrel)	160
Figure 58 : Place de l'activation mastocytaire dans la microthrombose	162
Figure 59: Place de l'activation mastocytaire par rapport à la microthrombose dans la dysfonction diastolique.....	163

Liste des abréviations

[Ca²⁺]_i: Concentration intracellulaire en Ca²⁺ libre

Ac: Anticorps

ACTA1: α-actine squelettique

ADAMTS13: A disintegrin and metalloproteinase with a thrombospondin type 1 motif, member 13

ADD : Addiction/dependence domain

ADP : Adénosine diphosphate

ADRB3 : Récepteur β3-adrénergique

AGES : Advanced Glycation End Products

AMPc : Adénosine-monophosphate cyclique

AMPK : AMP-activated protein kinase

Ang II : Angiotensine 2

aPC : Protéine C activée

APLN : Apeline

APLNR : Apelin receptor

ATIII : Antithrombine III

ATP : Adénosine triphosphate

AVC : Accident vasculaire cérébral

BHE : Barrière hémato-encéphalique

BOC: Brother of Cdon

Ca²⁺: Calcium

CaMKII: Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II

CDH5: Cadhérine 5

CDON: Cell adhesion molecule-related/Downregulated by Oncogenes

CE : Cellule endothéliale

CK-1 : Casein kinase 1

CML : Cellule musculaire lisse

COL1A1 : Collagène 1

COL3A1: Collagène III

COX-1: Cyclooxygénase I

CRP: Protéine C-réactive

CTGF: Connective tissue growth factor

Cx37 : Connexine 37

Cx43 : Connexine 43

DHH : Desert Hedgehog

DT2 : Diabète de type 2

ECA : Enzyme de conversion de l'angiotensine

ECG : Electrocardiogramme

EDN1 : Endothéline 1

eNOS : Endothelial nitric oxide synthase

EPCR : Récepteur endothélial de la protéine C

FA : Fibrillation atriale

FEVG : Fraction d'éjection du ventricule gauche

FGN: Fibrinogène

FL-DHH: Full-length Desert Hedgehog

FT: Facteur tissulaire

GAS1: Growth Arrest-Specific Gene 1

GDF-15: Growth differentiation factor 15

GLI: Glioma-associated oncogene

GLP-1: Glucagon-like peptide-1

GMPc: Guanosine monophosphate cyclique

GSK3 β : Glycogen synthase kinase 3 β

Hh: Hedgehog

Hhat: Hedgehog acétyle transférase

HHIP: Hedgehog interacting protein

HHIPL1: Hedgehog interacting protein like 1

HTA : Hypertension artérielle

IC : Insuffisance cardiaque

ICFep : Insuffisance cardiaque à fraction d'éjection préservée

ICFer : Insuffisance cardiaque à fraction d'éjection réduite

ICAM-1 : Inter Cellular Adhesion Molecule-1

IgG : Immunoglobuline G

IL-6 : Interleukine 6

KO : Knockdown

KRAS : Kirsten rat sarcoma viral oncogen homologue

MCP-1 : Protéine chimiotactique monocyte-1

MEC : Matrice extracellulaire

mmHg : Millimètre de mercure

MyBPC : Myosin binding protein C

MYH6 : Myosine 6

MYH7 : Myosine 7

NCX : Echangeur Na⁺/Ca²⁺

NETs : Neutrophil extracellular traps

NLR : rapport neutrophiles/lymphocytes

NO : Monoxyde d'azote

NOS3 : Nitric Oxyde Synthase 3

NOX : Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxydase

NOX2 : Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxydase 2

NOX4 : Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxydase 4

NRAS : Neuroblastoma rat sarcoma viral oncogen homologue

NRG-1 : Neureguline-1

PAI-1 : Inhibiteur de l'activateur du plasminogène de type 1

Pdx1: Pancreatic and duodenal homeobox

PDZRN3: PDZ Domain Containing Ring Finger 3

Per2: Period Circadian Regulator 2

PF-4: Facteur plaquettaire 4

PGF : Facteur de croissance placentaire

PGI2 : Prostaglandine I2

PI3K: Phosphoinositide 3-kinase

PKA: Protéine kinase A

PKG: Protéine kinase G

PLN: Phospholamban

PLR : Rapport plaquettes/lymphocytes

PON-1 : Paraoxonase-1

PSGL1 : Ligand-1 de la glycoprotéine P-sélectine

RAC-1: Rac Family Small GTPase 1

RAGE : Récepteur de la glycation avancée

RhoA: Ras homolog family member A

RyR2 : Récepteur à la ryanodine

sCD40L: CD40 ligand soluble

SERCA2a: Sarcoplasmic/endoplasmic reticulum Ca²⁺ ATPase 2a

SGLT2 : Cotransporteur sodium-glucose de type 2

sGC: Guanylate cyclase soluble

sICAM-1: ICAM-1 soluble

SIRT1: Sirtuine 1

SIRT3: Sirtuine 3

SMO: Smoothened

SRAA: Système rénine-angiotensine-aldostérone

sST2: Soluble suppression of tumorigenecity 2

STZ: Streptozotocine

SUFU: Suppressor of fused homolog

Tau: Constante isovolumique de relaxation

TFPI : Inhibiteur de la voie du facteur tissulaire

Tg: Transgénique

TGFβ1: Transforming growth factor beta 1

TNFα : Tumor Necrosis Factor α

t-PA : Activateur tissulaire du plasminogène

TxA2: Thromboxane A2

VCAM-1: Vascular cell adhesion protein 1

VD: Ventricule droit

VEGF: Vascular endothelial growth factor

VEGFR: Vascular endothelial growth factor receptor

VG : Ventricule gauche

vWF : Facteur de von willebrand

ZO-1: Zonula occludens-1

β -TG : Bêta-thromboglobuline

I. INTRODUCTION

1) Anatomie cardiaque

Le système cardiovasculaire assure l'approvisionnement de l'ensemble des tissus et cellules de l'organisme en nutriment et en oxygène. Il permet également l'élimination des déchets métaboliques. Ce système est composé du cœur, des artères, des veines et des capillaires. Le cœur est l'appareil central de ce système. Avant d'étudier toutes perturbations de son fonctionnement telles que l'insuffisance cardiaque (IC), il est important de comprendre sa physiologie.

a) Localisation

Le cœur est « **une pompe musculaire valvulaire** » de la taille d'un poing d'environ 250 à 300 grammes. Cet organe est enveloppé par le péricarde, une couche protectrice fibreuse lui assurant un espace suffisant. Il est situé dans le thorax au niveau du médiastin antérieur. La surface antérieure du cœur repose sur le tendon central du diaphragme, la base se trouve en avant de l'œsophage et de l'aorte descendante, et la surface antérieure se trouve derrière le sternum et les cartilages costaux (Whitaker 2010).

b) Cavités cardiaques

Le cœur est un muscle strié creux composé à sa base de l'oreillette droite et l'oreillette gauche séparées par un tissu conjonctif non conducteur : le septum interauriculaire. À son apex, il est composé des ventricules gauche (VG) et droit (VD), séparés par le septum interventriculaire. La séparation entre les ventricules et oreillettes quant à elle est réalisée par le septum continu. L'association entre l'oreillette droite et le ventricule droit va former le cœur droit, tandis que celle entre l'oreillette gauche et le ventricule gauche va former le cœur gauche. Ces deux systèmes vont ensuite fonctionner de manière asynchrone. Anatomiquement, la paroi des ventricules est plus épaisse que celle des oreillettes. En raison des différences de pression auxquelles elles seront soumises durant le cycle cardiaque, l'épaisseur de la paroi musculaire du VG est plus importante (environ 10 mm) que celle du VD (3-5 mm) (Whitaker 2010).

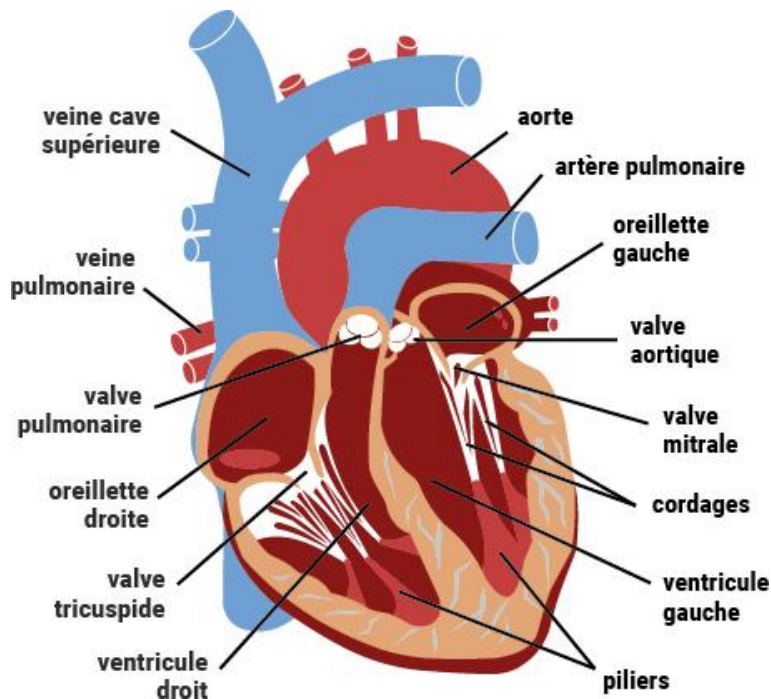


Figure 1: Anatomie cardiaque

("Le fonctionnement du cœur" 2016)

c) Valves cardiaques

Les valves cardiaques ont pour fonction principale de favoriser la circulation coordonnée du sang vers l'avant pendant le cycle cardiaque en évitant le reflux sanguin. Il s'agit de structures composées de tissus conjonctifs hautement organisés (collagène 3 [COL3A1], collagène 1 [COL1A1], protéoglycanes et élastine) entourés d'endocarde. Leur ouverture et leur fermeture sont contrôlées par des différences de pression. Elles peuvent être la cible de pathologies valvulaires, ayant des répercussions sur le cycle cardiaque, telles qu'une sténose, une régurgitation ou une malformation (Hinton and Yutzey 2011). Les valves sont présentes à la fois entre les oreillettes et les ventricules (**Valves auriculo-ventriculaires : Tricuspide et mitrale**), mais également entre les ventricules et les grandes artères (aorte et artère pulmonaire) (**Valves sigmoïdes : aortique et pulmonaire**). L'épaisseur des valves est d'environ 1 mm ; cependant, les valves auriculo-ventriculaires sont légèrement plus épaisses que les valves sigmoïdes et les valves gauches sont légèrement plus épaisses que les valves droites.

1. Valves auriculo-ventriculaires

Les deux **valves auriculo-ventriculaires** (tricuspide et mitrales) sont caractérisées par de grands feuillets asymétriques articulés sur un anneau fibreux dont l'extrémité est attachée aux ventricules par l'intermédiaire de la chordae tendineae reliant les muscles papillaires ventriculaires. À droite, la valve tricuspide est constituée de trois feuillets (antérieur, septal, postérieur), alors qu'à gauche, la valve mitrale est constituée de deux feuillets (antérieur ou aortique et postérieur). L'objectif de ces valves est de favoriser le remplissage du ventricule, puis de favoriser l'éjection du sang par l'aorte et le tronc pulmonaire en empêchant tout reflux vers les oreillettes.

2. Valves sigmoïdes

Les **valves aortiques et pulmonaires** sont plus petites et légèrement moins épaisses que les valves auriculo-ventriculaires. Ces valves sont composées d'un anneau fibreux et de trois feuillets semi-lunaires. Pendant la systole ventriculaire, ces valves vont s'ouvrir pour laisser passer le sang, alors que pendant la diastole ventriculaire, elles vont se fermer afin d'empêcher un reflux sanguin.

L'oreillette droite récupère le sang veineux non oxygéné par l'intermédiaire des veines caves inférieures et supérieures et assure le transfert au VD via la valve tricuspide. Après contraction du VD, le sang est envoyé aux poumons via l'artère pulmonaire (valve pulmonaire) pour y être oxygéné. Le sang oxygéné débouche dans l'oreillette gauche par les veines pulmonaires puis passe dans le VG à travers la valve mitrale. Le sang sera ensuite éjecté dans l'aorte pendant la systole (valve aortique) puis distribué dans l'organisme.

d) Circulation coronaire

Le réseau vasculaire est composé de trois principaux types de vaisseaux. En fonction de leur taille et de leur structure, ces vaisseaux vont permettre la distribution du sang dans les différents organes :

- **les artères assurent le transport du sang du cœur vers les tissus.** Le sang est initialement pompé dans de grandes artères élastiques qui vont ensuite se ramifier en pré-artérioles jusqu'à former des artérioles (<100 µm de diamètre). La régulation du flux sanguin des artérioles vers les capillaires est assurée par les CML (cellules musculaires lisses) des artérioles.

- **Les capillaires sont les vaisseaux sanguins les plus petits (4 à 10 μm de diamètre) et les plus nombreux. Ils assurent les échanges entre le sang et les tissus ainsi que la connexion entre les artères et les veines.**

- **Les veines assurent le transport du sang des tissus vers le cœur.** Après avoir traversé les capillaires, le sang pénètre dans les plus petites veines, appelées veinules (0.1mm à 1mm de diamètre). À partir de ces dernières, il s'écoule dans des veines de plus en plus grosses jusqu'à ce qu'il atteigne le cœur.

Le cœur est irrigué par un système circulatoire dynamique distinct de la circulation systémique et pulmonaire : la circulation coronaire.

Cette circulation coronaire est intra murale et permet entre autres d'approvisionner le myocarde en oxygène nécessaire à l'inotropisme. Cela est effectué par l'intermédiaire de deux artères coronaires se ramifiant en vaisseaux de plus petit calibre. En effet, l'activité contractile cardiaque repose sur un métabolisme aérobie avec notamment une extraction basale d'oxygène de l'ordre de 70 à 80 % au repos (Porenta et al. 1999; Duncker and Bache 2008). La demande du myocarde en oxygène peut être augmentée de manière importante en fonction des variations de fréquence ventriculaire, de pression et de contractilité. L'augmentation de l'extraction d'oxygène ne fournit qu'une capacité « tampon » limitée et la majorité de cette demande est satisfaite par une augmentation dynamique du débit coronaire.

1. Structure des artères et veines coronaires

À partir de la base de l'aorte, on distingue deux artères coronaires (gauche et droite). L'artère coronaire gauche se ramifie en artère intraventriculaire antérieure et artère circonflexe. L'artère coronaire droite donne naissance à l'artère interventriculaire postérieure et au rameau marginal (Goodwill et al. 2017).

Le cœur compte deux veines coronaires (grande et moyenne) formant le sinus coronaire se jetant dans l'oreillette droite.

La paroi des artères et veines coronaires est constituée de trois tuniques de la plus interne à la plus externe :

- **L'intima** (également appelée tunique interne) est la tunique au contact du sang. Elle est constituée d'une monocouche de cellules endothéliales (CE) entourées d'une membrane basale liant l'endothélium au tissu conjonctif de collagène et de fibres élastiques. Une matrice extracellulaire spécialisée appelée glycocalyx (protéoglycanes, glycosaminoglycanes et glycoprotéines) est présente sur la face apicale des CE. Elle intervient dans la régulation de multiples processus vasculaires tels que la perméabilité, l'inflammation, la thrombose et la méchanotransduction (Moore, Murphy, and George 2021). Les vaisseaux ayant un diamètre supérieur à 1 mm possèdent une couche sous-endothéliale de tissu conjonctif lâche.

- **La média** est la tunique la plus épaisse. Elle est constituée de couches de CML et de matrice extracellulaire (MEC) (collagène, élastine, fibronectine et protéoglycanes). Elle assure non seulement le soutien du vaisseau, mais modifie également son diamètre par un mécanisme de vasodilatation et de vasoconstriction afin de réguler le flux sanguin et la pression artérielle.

- **L'adventice** est la tunique la plus externe de la paroi vasculaire. Elle permet de relier le vaisseau au tissu environnant. Cette couche est constituée de tissu conjonctif avec des quantités variables de fibres élastiques et de collagènes. Elle contient une population hétérogène de cellules (macrophages, lymphocytes B et T, cellules dendritiques et fibroblastes), un système nerveux adrénergique (nervi vasorum), un réseau lymphatique et un réseau microvasculaire (vasa-vasorum) (Mulligan-Kehoe and Simons 2014).

Structurellement, il existe des différences entre les artères et veines coronaires ([tableau 1](#)). Généralement, les artères possèdent des parois épaisses et riches en fibres élastiques leur permettant de résister aux fortes pressions sanguines. Les artérioles sont responsables de 40 % de la résistance du flux coronarien et la modulation de leur tonus est essentielle pour l'adaptation du débit sanguin coronaire (Lanza, Figliozzi, and Parrinello 2015). L'épaisseur de chacune des trois tuniques est réduite et leur média se limite à une ou deux couches de CML ([figure 2](#)).

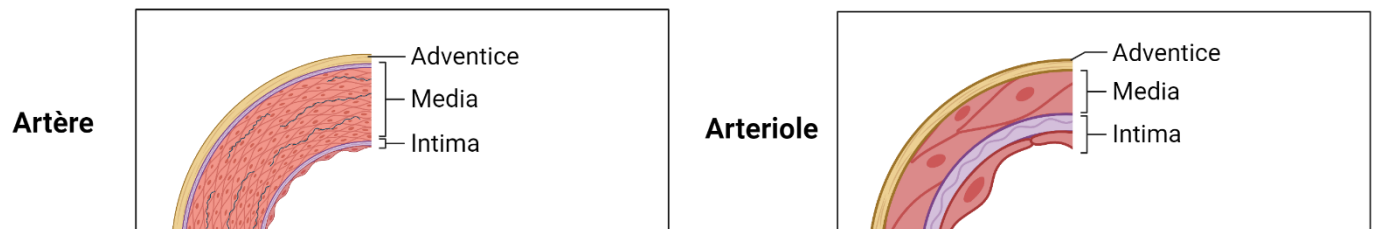


Figure 2 : Comparaison structurelle artère et artériole

Comparativement aux artères, les veines sont exposées à des pressions plus faibles, leur paroi est mince, moins élastique avec des lumières larges et irrégulières. Quel que soit leur calibre, elles vont être capables de se dilater et sont équipées de valves agissant comme un système anti-reflux. La circulation coronaire veineuse participe à hauteur de 10 à 15 % à la résistance du flux coronarien. Elle peut influencer le recrutement des capillaires et le volume sanguin dans la paroi ventriculaire (Lanza, Figliozzi, and Parrinello 2015).

	Artère	Veine
Épaisseur de paroi	- Importante	- Fine
Pression sanguine	- Élevée	- Faible
Valves	- Non	- Oui
Intima	- Endothélium généralement « ondulé » - Limitante élastique interne.	- Endothélium « lisse » - Absence de limitante élastique
Media	- Épaisse - CML et fibres élastiques +++ - Limitante élastique externe	- Plus fine que l'adventice - CML et fibres de collagène +++ - Vasa vasorum - Absence de limitante élastique externe
Adventice	- Plus fine que la média - Fibres de collagène et élastiques - Vasa vasorum & nervi vasorum	- Tunique la plus épaisse - Collagène et CML - Vasa vasorum & nervi vasorum

Tableau 1 : Différences structurelles entre artère et veine

2. Capillaires

L'oxygène est majoritairement délivré aux cardiomyocytes par les capillaires. Leur densité est élevée dans le myocarde (environ 3000 à 4000 capillaires/mm²) (Hudlicka, Brown, and Egginton 1992) soit environ 100 fois supérieures à celle des artérioles. Ils contribuent à environ 15% de la masse cardiaque (Tomanek 2022).

Structurellement, les capillaires ont une paroi très mince, formée de cellules endothéliales reposant sur une lame basale. Ils sont entourés par des péricytes (figure n°3).

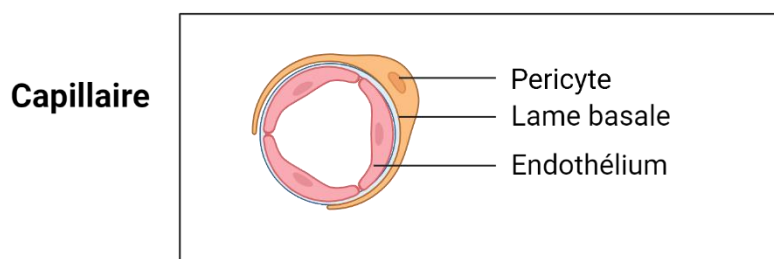


Figure 3 : Structure d'un capillaire

Les principaux capillaires cardiaques et pulmonaires sont continus contrairement aux réseaux de l'intestin et du glomérule où ils sont fenestrés et aux réseaux du foie et des glandes endocrines (surrénale et hypophyse) où ils sont discontinus (Aird 2007). Ils sont caractérisés par une lame basale continue avec la membrane des CE et les échanges ne se font qu'au niveau des jonctions serrées.

Par la suite, nous allons principalement nous intéresser aux fonctions des CE dans le système vasculaire, dont le rôle sera détaillé plus précisément dans la partie intitulée « fonction vasculaire ».

e) Structure de la paroi cardiaque

La structure de la paroi cardiaque comprend trois tuniques principales : l'endocarde, le myocarde et le péricarde, de la plus interne à la plus externe. L'endocarde est formé d'une couche de CE aux propriétés anticoagulantes recouvrant la face interne du cœur (cavités, valves, piliers). Le myocarde constitue le muscle cardiaque, il est composé de cardiomyocytes nodaux (générateurs d'influx électrique) et contractiles. Enfin, le péricarde est composé majoritairement de tissus conjonctifs. Il peut être subdivisé en 3 couches : une couche externe fibreuse non élastique, et deux couches internes séreuses. On observe une couche viscérale tapissant le cœur, et une couche pariétale tapissant la surface interne du péricarde fibreux. Il existe un liquide péricardique favorisant le glissement entre les parois et donc les mouvements de contraction et de relaxation.

Les cardiomyocytes ne représentent qu'environ 35-45 % des cellules cardiaques (30 % dans les oreillettes et 50% dans les ventricules) (G. B. Lim 2020; Pinto et al. 2016). Cependant, ils représentent environ 80 % du volume cardiaque et sont les acteurs de la contraction cardiaque. Les autres types cellulaires sont des fibroblastes, des cellules murales, des CE, et des cellules immunitaires (myéloïdes et lymphoïdes).

1. Le cardiomyocyte

Les cardiomyocytes contractiles sont les acteurs de la contraction et de la relaxation au sein d'un cycle cardiaque. Les protéines contractiles représentent environ la moitié du volume (Katz 2010) des cardiomyocytes et leur organisation est étroitement régulée en un réseau de myofibrilles au sein du sarcomère. La contraction est un processus nécessitant une forte concentration d'adénosine triphosphate (ATP), c'est pourquoi la mitochondrie occupe également une grande partie du volume restant (30%)(Piquereau et al. 2013). Des systèmes membranaires interviennent dans la régulation de la performance contractile en régulant les échanges ioniques (Ca^{2+} principalement). Il s'agit notamment

de la membrane intracellulaire du réticulum sarcoplasmique et de la membrane plasmique séparant le cytosol de l'espace extracellulaire.

La fonction contractile du cardiomyocyte est contrôlée par l'activation et la relaxation des myofilaments dépendant du Ca^{2+} ainsi que par les propriétés viscoélastiques passives largement déterminées par les myofilaments (par exemple, la rigidité liée à la titine).

a. Le sarcomère

Les sarcomères sont les unités de base responsable de la contraction musculaire. **Les sarcomères (environ 1.8 à 2 μm de longueur) sont des complexes multiprotéiques hautement ordonnés et alignés longitudinalement. Ils sont responsables de la génération de forces actives et passives** (Crocini and Gotthardt 2021) **essentielle à la contraction**. Les forces actives sont générées par le glissement des filaments d'actine et de myosine l'un sur l'autre, tandis que la tension passive dans le sarcomère est générée par la titine. Le sarcomère est composé d'un réseau hexagonal régulier de filaments fins contenant de l'actine, attachés au disque Z, et de filaments épais contenant de la myosine, interconnectés au milieu du sarcomère par la bande M (*figure 4*). En outre, **la protéine géante élastique titine relie le disque Z à la bande M et stabilise la contraction**. Les sarcomères sont connectés en série au niveau du disque Z et disposés en parallèle pour former des faisceaux de myofibrilles d'environ 1 μm de diamètre.

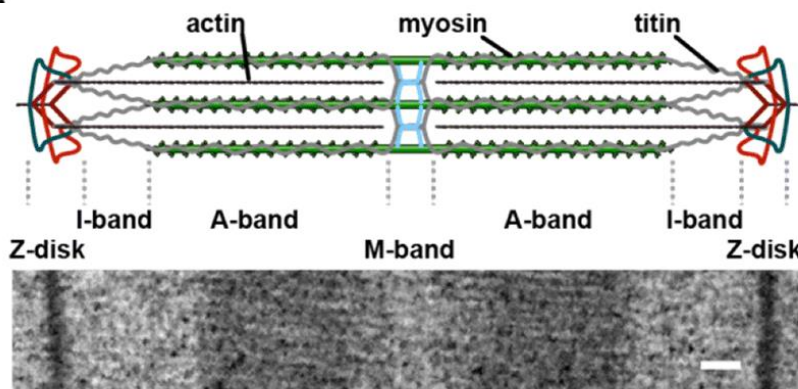


Figure 4 : Structure d'un sarcomère
Adapté de (Crocini and Gotthardt 2021)

b. Filaments épais

La myosine est le principal composant des filaments épais du sarcomère. Chaque molécule de myosine est un hexamère composé de deux chaînes lourdes (environ 220 kDa chacune), contenant un site de liaison à l'actine et un site d'hydrolyse de l'ATP, ainsi que de quatre chaînes « calmoduline-like » légères (environ 20 kDa chacune). Elle joue un rôle dans la contraction par l'intermédiaire de

deux isoformes de chaîne lourde aux propriétés différentes : la myosine 6 (MYH6 ou α -MyHC) et la myosine 7 (MYH7 ou β -MyHC). Chez l'Homme, l'isoforme MYH7 représente la majeure partie de la myosine dans les ventricules tandis que les oreillettes expriment plus la MYH6 (Walklate et al. 2021). La MYH7 génère plus de force que la MYH6, mais a une activité ATPasique moindre (Aksel et al. 2015). Une modification de l'expression de ces deux isoformes est souvent constatée dans les cardiomyopathies et l'insuffisance cardiaque (Barrick and Greenberg 2021).

Les filaments épais contiennent également la protéine C de liaison à la myosine cardiaque (cMyBP-C) (140 kDa). Cette protéine réside dans la bande A, interagit avec la myosine et la titine et contribue à maintenir la structure sarcomérique ainsi qu'à réguler la contraction et la relaxation cardiaques.

c. Filaments fins

Le filament fin se compose d'une hélice double brin d'actine filamenteuse (F-actine), de deux brins de tropomyosine (Tm) et des trois sous-unités de troponine (Troponine T, Troponine I et Troponine C), qui forment ensemble le complexe régulateur de Ca^{2+} du filament fin (Parmacek and Solaro 2004). Les brins de tropomyosine confèrent au filament fin une flexibilité et une stabilité par l'intermédiaire de leur localisation dans les deux rainures de la F-actine. Dans un cœur sain, l' α -actine cardiaque (ACTC) est majoritaire par rapport à l' α -actine squelettique (ACTA1). Cependant dans un contexte pathologique l'expression de la forme squelettique est accrue (Copeland et al. 2010).

d. Titine et compliance du cardiomyocyte

La protéine géante cytosquelettique titine (environ 3 MDa) s'étend du disque Z à la bande M du sarcomère et fonctionne comme un échafaudage et un ressort moléculaire. Ses propriétés élastiques lui permettent de participer à la relaxation passive du sarcomère par l'extension du myocarde (LeWinter and Granzier, 2013).

La tension passive de la titine peut être ajustée à long terme par la commutation des isoformes de titine via un épissage alternatif ou par des modifications post-traductionnelles.

i. Structure de la titine

La région de la titine située dans la bande I (environ 1,0 MDa) est extensible et se compose de domaines de type immunoglobuline G disposés en tandem, et de deux séquences substrats pour des kinases agissant comme un ressort : la séquence PEVK (riche en résidus proline, acide glutamique, valine et lysine), et l'élément N2B avec sa séquence extensible N2B-U_s (Bang et al. 2001). La partie C-terminale inextensible (environ 2 MDa) de la titine est située dans la bande A. Elle est composée de super répétitions d'immunoglobine et de fibronectine de type 3 (Fn3). Cette région de la titine est proposée pour fonctionner comme une règle moléculaire régulant l'assemblage du filament épais. Enfin, la région carboxy-terminale (environ 250-kDa) est située dans la bande M et contient un domaine

kinase (LeWinter and Granzier 2010). Les filaments de titine de polarité opposée issus d'un même sarcomère s'interconnectent dans la bande M, tandis que les filaments issus de deux sarcomères vont s'ancrer en se chevauchant dans le disque Z.

ii. Isoformes de titine

La titine est codée par un seul gène et un mécanisme d'épissage dans la région codant pour la bande I (environ 230 exons) donne naissance à 3 isoformes différentes (figure 5) (Bang et al. 2001):

- L'isoforme **N2B relativement petite** (environ 3,0 MDa).
- L'isoforme **N2BA plus longue** (environ 3,3 à 3,5 MDa) qui en plus de l'élément N2B contient l'élément N2A et un domaine PEVK plus long.
- L'isoforme **FTC ou fœto-néonatal cardiaque** ayant des domaines PEVK en tandem (environ 3,6-3,8 MDa)

Par la suite, nous nous intéresserons uniquement aux deux isoformes exprimées à l'âge adulte dans le coeur : N2B et N2BA.

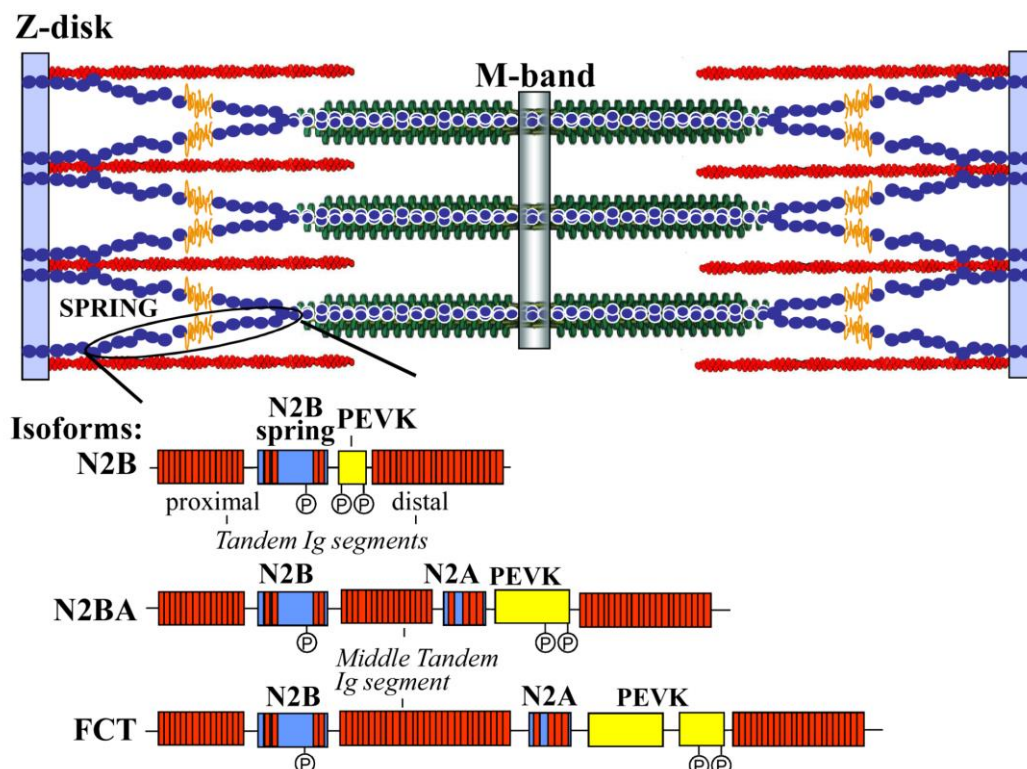


Figure 5: Schéma représentatif des isoformes de la titine au sein d'un sarcomère
Adapté de (LeWinter and Granzier 2010)

iii. Régulation passive de la rigidité du cardiomyocyte

Lorsque le muscle cardiaque est étiré au-delà de sa longueur de sarcomère au repos, il développe une tension passive. La tension passive est essentielle car elle contribue à la tension diastolique de la paroi déterminant le degré de remplissage du ventricule et le volume d'éjection systolique qui s'ensuit (Fukuda et al. 2009). Cette tension participe à la détermination de la vitesse de raccourcissement des cardiomyocytes (Sweitzer and Moss 1993) et leur relaxation. La titine est le plus grand modulateur de la tension passive. En effet, comme nous l'avons vu précédemment, la rigidité passive médiée par la titine peut être ajustée à la fois à long terme par la commutation des isoformes de titine ou plus rapidement par des modifications post-traductionnelles.

L'isoforme N2BA a une séquence PEVK extensible plus longue, elle est donc plus compliant que l'isoforme N2B. Afin de répondre aux exigences des battements du cœur, la tension de la titine peut être modulée via des modifications post-traductionnelles des éléments du ressort (séquence PEVK et N2B) (Koser, Loescher, and Linke 2019). La phosphorylation du domaine PEVK (via CaMKII) augmente la rigidité de la titine (Hamdani, Krysiak, et al. 2013), tandis que la phosphorylation du domaine N2B (via PKG et PKA) la diminue (Kötter et al. 2013) (figure 6).

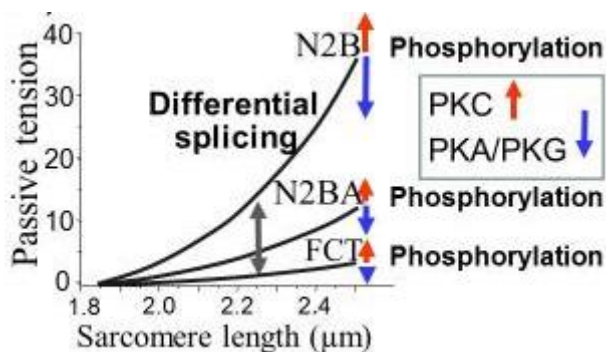


Figure 6 : Courbe force-extension des isoformes de la titine et effets de la phosphorylation sur la tension passive. (LeWinter and Granzier 2014)

Une modification du ratio N2BA/N2B ou des modifications de phosphorylation pouvant moduler la tension passive des cardiomyocytes ont été décrites dans de nombreuses maladies cardiaques.

e. Le réticulum sarcoplasmique et contractilité du cardiomyocyte

Le contenu en Ca^{2+} du réticulum sarcoplasmique est critique pour la fonction cardiaque et son électrophysiologie. Cet organite module la quantité en Ca^{2+} nécessaire pour la contraction musculaire par l'intermédiaire de récepteurs et de pompes. Le récepteur à la ryanodine (RyR2) est activé à la suite

d'une entrée de calcium extracellulaire. Une fois activé, il libère le Ca^{2+} contenu dans le réticulum sarcoplasmique. Cet organite permet également le repompage du Ca^{2+} cytosolique via une pompe dépendante de l'adénosine triphosphate (ATP) ; la SERCA2a (Sarcoplasmic/endoplasmic reticulum Ca^{2+} ATPase 2a) permettant de transporter deux molécules de Ca^{2+} pour une molécule d'ATP hydrolysée.

Régulation active de la force du cardiomyocyte

D'après la loi de Frank-Starling, en réponse aux remplissages cardiaques, la contraction et donc le raccourcissement des sarcomères s'ajustent dynamiquement à chaque battement. Cette loi décrit la relation directe entre la longueur des fibres cardiaques et la force générée lors de la contraction : l'augmentation du retour veineux dilate les ventricules et étire le myocarde qui répond en augmentant à la fois la contractilité et le volume d'éjection systolique. Il existe une relation directe entre la longueur des myofilaments, leur sensibilité au Ca^{2+} et le développement de la force active. Cette relation peut être influencée par :

– **La longueur du sarcomère** : le développement de la tension active est optimal près de la longueur du sarcomère au repos (environ 2 μm) et diminue à des longueurs plus faibles ou plus élevées (Gordon, Huxley, and Julian 1966).

– **Le degré de chevauchement entre les filaments d'actine et de myosine** : avec le remplissage la taille du sarcomère augmente ainsi que sa capacité à générer de la tension, car davantage de têtes de myosine sont capables de se lier à l'actine.

– **Les forces radiales générées par la titine** entraînent une réduction de l'espace latéral entre les myofilaments (chargés négativement) et influencent leur affinité aux ions Ca^{2+} (Cazorla et al. 2001; Fukuda et al. 2009).

Le raccourcissement et la contraction du sarcomère en réponse au remplissage du ventricule dépendent donc du Ca^{2+} et plus particulièrement de son rôle dans le couplage excitation-contraction. Il permet notamment de transformer un potentiel d'action en action mécanique par l'intermédiaire de la contraction du cardiomyocyte.

f. Le sarcolemme

La membrane plasmique ou sarcolemme des cardiomyocytes s'invagine par endroit pour former des structures en **tubules T** d'environ 150 à 300 nm de diamètre rejoignant le réticulum sarcoplasmique ainsi qu'au contact du sarcomère (ligne Z) (Soeller and Cannell 1999). **De nombreuses protéines impliquées dans le cycle du Ca^{2+} sont concentrées dans les tubules T.** Dans le tissu cardiaque des mammifères, ces structures sont principalement abondantes dans les myocytes ventriculaires et le sont

moins dans les autres tissus (Brette and Orchard 2003). Elles contiennent un grand nombre de protéines et canaux intervenants dans la gestion du Ca^{2+} dont la répartition est primordiale pour leur rôle au sein du couplage excitation-contraction. Il s'agit notamment des canaux calciques de type L permettant l'entrée de Ca^{2+} , et des échangeurs $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ (NCX) permettant d'extruder le calcium.

2. Couplage excitation-contraction

Le couplage excitation-contraction fait référence aux processus liant un potentiel d'action (excitation électrique) à la contraction des cardiomyocytes et donc du cœur. Dans le cœur le potentiel d'action est initié dans le nœud sinusal et se propage dans le myocarde par transmission électrique à travers les jonctions communicantes (jonctions gaps) dans les cardiomyocytes pour générer une contraction. La concentration en calcium (Ca^{2+}) cardiomyocytaire et ses mouvements coordonnés sont essentiels à l'activité électrique cardiaque et à la contraction au travers de l'activation des myofilaments. Une altération des taux de Ca^{2+} intracellulaires peut être responsable d'une dysfonction contractile et d'arythmies (Landstrom, Dobrev, and Wehrens 2017; Pogwizd et al. 2001).

Ce mécanisme débute par l'arrivée du potentiel d'action au sarcolemme et aux tubules T du cardiomyocyte. Il s'en suit une dépolarisation du sarcolemme (-90 mV à +20 mV) qui conduit à l'ouverture de canaux Ca^{2+} de type L dans ces deux zones (Figure 7). Il en résulte un influx de Ca^{2+} (« Ca^{2+} sparklet ») dans le cytosol et plus particulièrement dans la fente dyadique (S. Q. Wang et al. 2001). Ainsi, localement, la concentration intracellulaire en Ca^{2+} libre $[\text{Ca}^{2+}]_i$ passe de 100 nM à 10-20 μM . Cette augmentation locale de $[\text{Ca}^{2+}]_i$ entraîne l'activation d'un groupe de récepteurs à la ryanodine 2 (RyR2) et leur ouverture par un mécanisme appelé calcium-induced-calcium released, libérant une quantité plus importante de Ca^{2+} du réticulum sarcoplasmique (« Ca^{2+} spark »). À la suite de ce mécanisme, la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ atteint des concentrations comprises entre 200-400 μM et le Ca^{2+} diffuse dans toute la cellule. Par diffusion, une augmentation globale de concentration en Ca^{2+} de 500 nM à 1 μM est observée. La troponine C des fibres contractiles est active à cette gamme de concentration en Ca^{2+} et permet de coupler le transitoire calcique induit par le potentiel d'action à la contraction. En effet, la fixation du Ca^{2+} à la troponine C provoque un changement de conformation du complexe troponine-tropomyosine et facilite l'interaction entre l'actine et la myosine par l'hydrolyse de l'ATP en adénosine diphosphate (ADP). Cela va induire le raccourcissement des sarcomères, et par conséquent, l'augmentation de la pression à l'intérieur du ventricule et l'éjection du sang.

L'augmentation du $[\text{Ca}^{2+}]_i$ pendant la systole est nécessaire, cependant une fonction cardiaque correcte exige que la force et la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ diminuent rapidement jusqu'à des niveaux suffisamment bas pour que le cœur puisse se remplir de sang en diastole (Eisner et al. 2017). Le muscle cardiaque va donc se détendre et le complexe troponine-tropomyosine va se reformer lorsque le calcium est éliminé du cytosol par séquestration dans le réticulum sarcoplasmique ou extrudé dans l'espace extracellulaire. La pompe SERCA2a permettant un transport actif du Ca^{2+} cytosolique vers le

réticulum sarcoplasmique est régulé par un inhibiteur endogène le phospholamban (PLN) (*figure 7*). La phosphorylation du PLN, par la protéine kinase A (PKA) (site sérine 16) ou par la Calmoduline Kinase II (CAMKII) (site thréonine 17), va lever l'action inhibitrice du PLN sur la pompe SERCA2a et augmenter son affinité pour le Ca^{2+} et son activité de recapture (Schwinger et al. 1999; Frank and Kranias 2000). Le Ca^{2+} est extrudé dans l'espace extracellulaire par l'échangeur NCX (3 Na^+ pour chaque Ca^{2+} extrudé) et dans une moindre mesure par la Ca^{2+} -ATPase plasmalemmale (PMCA).

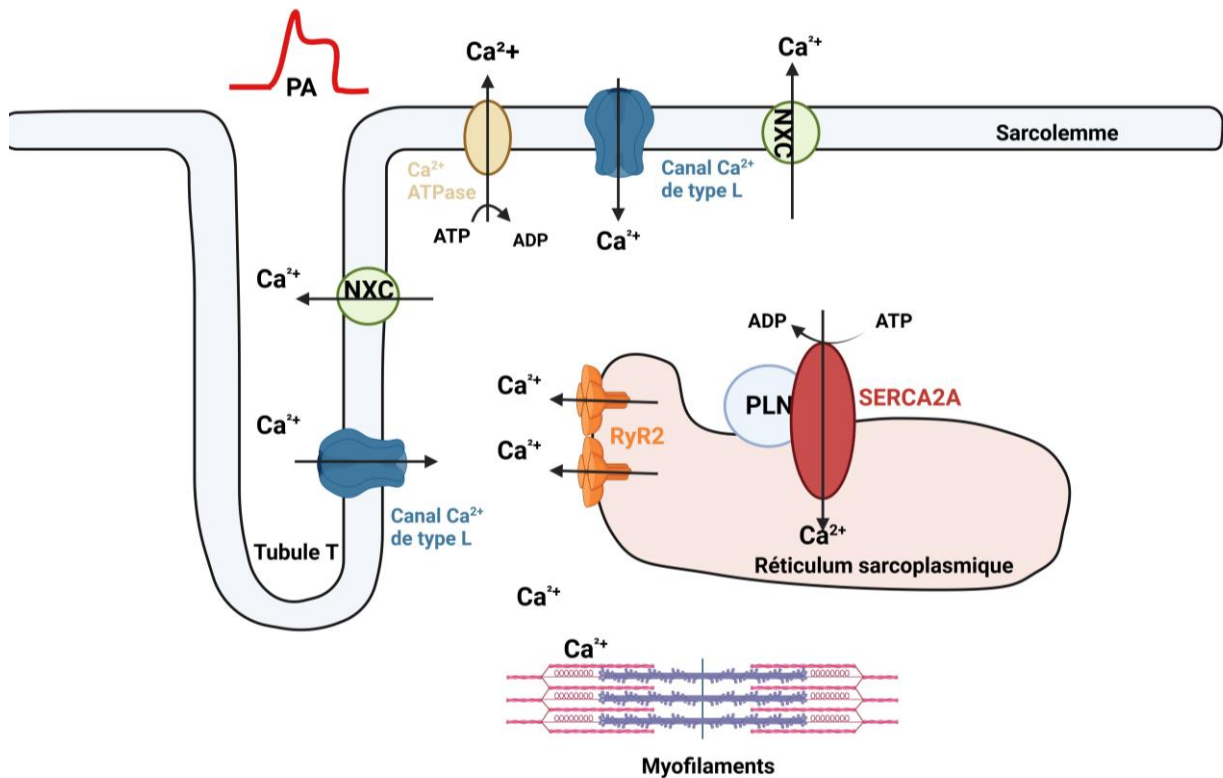


Figure 7 : Structures impliquées dans le cycle du calcium cardiomyocytaire

f) Cycle cardiaque

La réalisation d'un cycle cardiaque entraînant des variations de pressions et de volume dans les ventricules se décompose principalement en 2 phases : **une phase de diastole** (elle-même séparée en 3 phases : relaxation isovolumique, remplissage ventriculaire rapide (diastasis, systole auriculaire) et **une phase de systole** (subdivisée en de 2 phases : contraction isovolumique et éjection ventriculaire) (Klabunde 2011).

1. Relaxation

À la fin de la systole ventriculaire, une phase de relaxation isovolumique du ventricule débute. Le muscle cardiaque se relâche sans variation du volume intraventriculaire (**relaxation isovolumique du ventricule**) (onde T sur l'ECG ; *figure 8*) et les fibres ventriculaires se repolarisent. La recapture du calcium cytosolique dans le réticulum sarcoplasmique et son extrusion extracellulaire provoque le relâchement des fibres et donc une baisse de pression intraventriculaire. La relaxation du ventricule est liée aux mécanismes actifs de recapture du calcium et à la compliance des cardiomyocytes. Lorsque la pression ventriculaire devient plus faible que celle dans l'aorte, la valve aortique se ferme, la valve mitrale s'ouvre provoquant le remplissage du ventricule (Opie 2004).

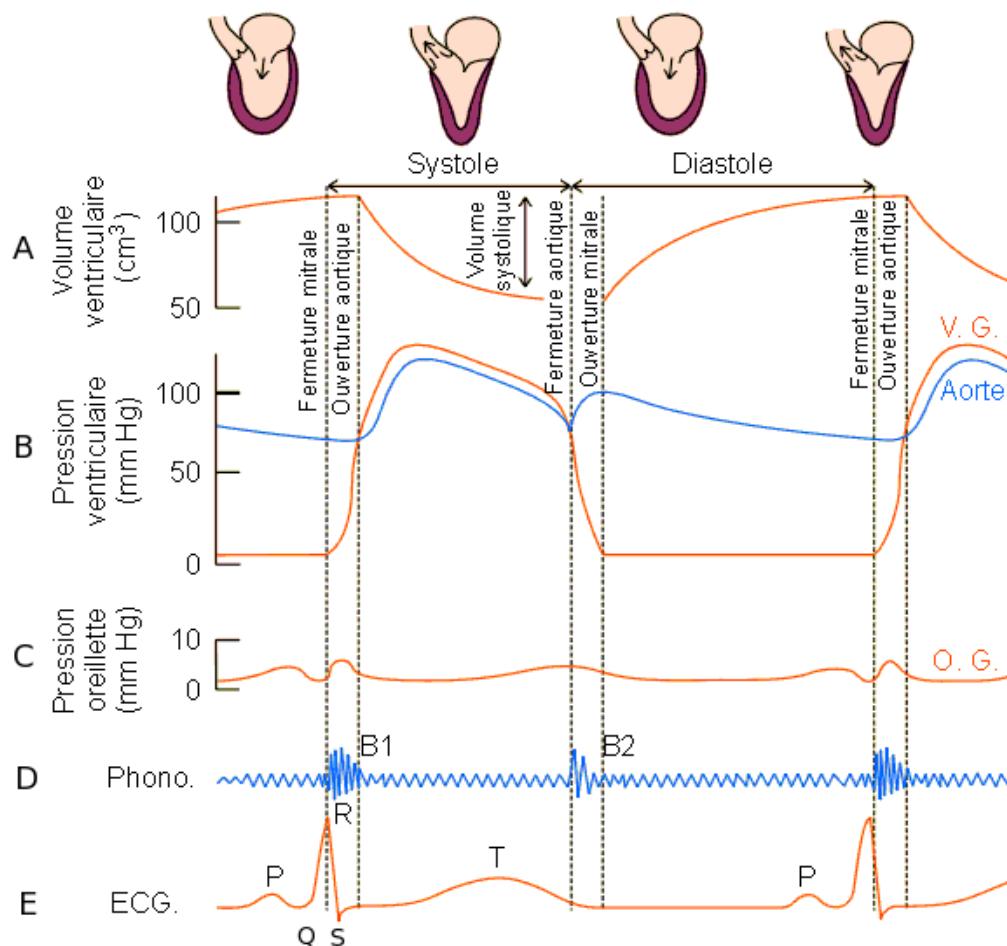


Figure 8 : Relation pression-volume et cycle cardiaque (diagramme de Wigger)

2. Remplissage ventriculaire

La valve mitrale reste ouverte durant toute la période de remplissage ventriculaire tandis que la valve aortique est fermée. Trois temps caractérisent cette phase : **le remplissage rapide, le diastasis et la systole auriculaire**. Dès que la valve mitrale s'ouvre (pression ventriculaire < pression auriculaire), le ventricule commence à aspirer le sang. Il s'agit d'un processus rapide qui dépend de la rigidité du ventricule. Cette phase rapide correspond à environ 70 % à 80 % du remplissage (Calvert and Lefer 2012; Opie 2004). Ensuite, durant le diastasis, le remplissage est lent et le volume augmente peu (< 5%) par l'égalisation des pressions entre l'oreillette gauche et le VG. Enfin, à la suite de la naissance d'influx du nœud sinusal, la systole auriculaire débute (Onde P sur l'ECG ; *figure 8*). Cet influx va ensuite entraîner une contraction des cardiomyocytes auriculaires permettant l'augmentation du volume sanguin ventriculaire (environ 20 à 30 % soit 30 mL). Le volume télédiastolique en fin de diastole est d'environ 135 mL (Klabunde 2011).

3. Systole ventriculaire

En fin de diastole, à la suite d'une dépolarisation de leur sarcolemme, les cardiomyocytes ventriculaires vont se contracter provoquant une augmentation de pression intraventriculaire. La pression intraventriculaire devient supérieure à celle dans l'oreillette gauche. Cette différence de pression va provoquer la fermeture de la valve mitrale. En fin de diastole (télédiastole), les valves sigmoïdes et auriculo-ventriculaires sont toutes fermées et donc la pression dans le VG augmente rapidement entraînant une contraction ventriculaire sans variation de volume que l'on qualifie donc « **d'isovolumique** ».

La pression dans le VG devient supérieure à celle de l'aorte, ce qui provoque l'ouverture de la valve aortique. La paroi myocardique s'épaissit et se raccourcit entraînant une réduction du volume dans le VG permettant l'éjection de sang vers l'aorte et la circulation périphérique (**éjection systolique**). Cette éjection du sang diminue la pression intraventriculaire et provoque ensuite la fermeture de la valve aortique par un différentiel de pression, on parle alors de télésystole. Le volume télésystolique en fin de systole correspond au volume restant dans le ventricule soit environ 65 mL.

2) Techniques d'évaluation de la fonction cardiaque

a) Échographie

L'échographie transthoracique est une méthode d'imagerie non-invasive reposant sur l'émission d'ultrasons, par une sonde, et ceux-ci se réfléchissent au contact d'un tissu. L'analyse de l'onde réfléchi par échographie tri-dimensionnelle va permettre d'imager le tissu cardiaque et d'obtenir de nombreux paramètres structuraux tels que le diamètre des cavités en diastole et en systole, l'épaisseur des parois et l'aspect des valves.

Cette méthode permet également d'obtenir des renseignements sur les volumes télédiastoliques et télésystoliques, les fonctions systoliques du VG (fraction de raccourcissement) et du ventricule droit (Fraction d'éjection ventriculaire gauche ou FEVG). La FEVG se calcule de la manière suivante et sera déterminante pour la classification des différents types d'IC :

$$\text{Fraction d'éjection(\%)} = \frac{\text{volume télédiastolique} - \text{volume télésystolique}}{\text{volume télédiastolique}}$$

En mode doppler, l'échographie permet d'obtenir l'orientation et la vitesse des flux aortiques et mitraux. Le flux mitral renseigne sur les caractéristiques du remplissage mitral diastolique : remplissage passif rapide VG en protodiastole (onde E), de la systole auriculaire (onde A), le temps de relaxation iso-volumique entre la fermeture de la valve aortique et l'ouverture de la valve mitrale (IVRT) et la relaxation (ratio : E/A) (Vignon 2007; Gabriel and Klein 2009)(Figure 9).

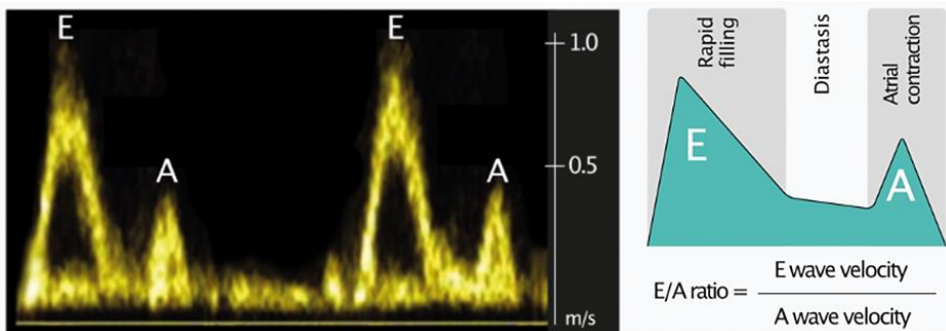


Figure 9 : Échographie doppler mitral et remplissage
Adapté de ("Assessment of Diastolic Function by Echocardiography" n.d.)

En doppler tissulaire, il est également possible d'étudier les caractéristiques du remplissage mitral en diastole (onde e', onde a') ainsi qu'estimer la pression télédiastolique (ratio E/e').

La principale limitation à cette technique c'est qu'elle représente une méthode indirecte ne permettant pas de mesurer de manière directe les paramètres de relaxation et de compliance.

b) Electrocardiogramme

L'électrocardiogramme (ECG) est un examen non invasif qui permet l'étude de l'activité électrique du cœur à chaque battement cardiaque par l'intermédiaire d'ondes (P, Q, R, S et T) correspondant aux différentes phases du cycle cardiaque (Cf. partie cycle cardiaque et figure 8). De cette manière, il permet de détecter un trouble de rythme (Xinwen Liu et al. 2021).

c) Cathétérisme droit - gauche

Le cathétérisme cardiaque est le plus souvent réalisé après, un examen physique et des tests cardiaques non invasifs tels qu'un ECG, un échocardiogramme ou une épreuve d'effort. **C'est une méthode invasive considérée comme le « gold standard » d'évaluation de l'hémodynamique cardiaque** (Schwarz et al. 2018). Un cathéter est introduit directement dans le cœur et ses différentes cavités et permet d'obtenir des courbes pressions/volumes (figure 10) et l'évaluation des pressions de remplissage.

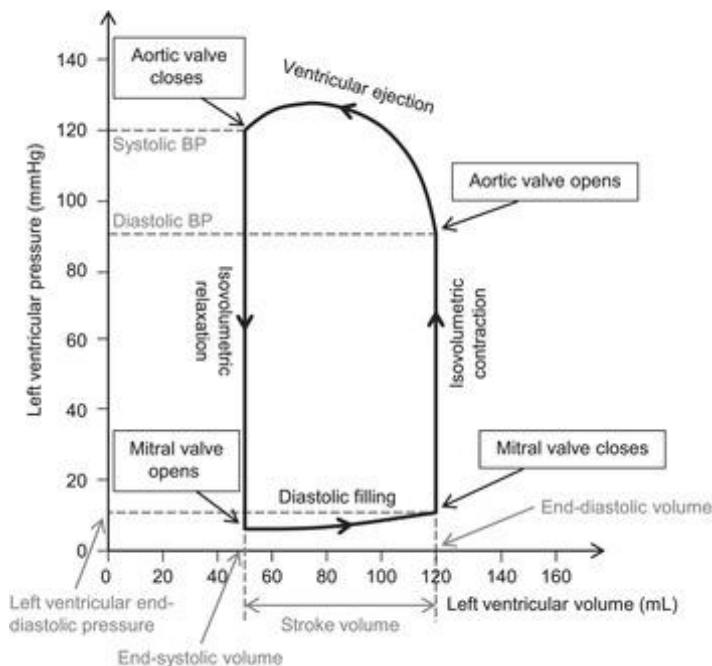


Figure 10 : Courbe pression-volume
C. Huang, Chambers, and Matthews 2015

Par la suite, nous nous intéresserons plus particulièrement au cathétérisme gauche. Le cathétérisme de l'artère carotide renseigne sur les pressions artérielles systoliques, diastoliques et moyennes ; tandis que celui du VG renseigne sur la pression télédiastolique (Left ventricular end-diastolic pressure ou LVEDP), la vitesse maximale de relaxation (dp/dt_{\min}), la constante isovolumique de relaxation (τ), et l'index de contractilité (dp/dt_{\max}).

Selon le type d'anomalie cardiaque, ces paramètres vont être modifiés et entraîner notamment un déplacement des courbes pression/volume.

3) L'insuffisance cardiaque

a) Généralités

1. Épidémiologie

Les maladies cardiovasculaires restent l'une des principales causes de décès avec environ 9,05 millions de décès dans le monde, ce qui représente une augmentation de 18,71 % par rapport à 2010 (Tsao et al. 2023). **Dans les pays développés, la prévalence de l'insuffisance cardiaque (IC) est estimée à environ 1 à 2 % de la population adulte.** Celle-ci augmente avec l'âge et représente jusqu'à 10 % des personnes âgées de plus de 70 ans avec un âge moyen de diagnostic autour de 75 ans (Norhammar et al. 2023). D'après les données de la NHANES acquises entre 2017 et 2020, environ 6,7 millions d'Américains sont touchés par cette pathologie. À l'heure actuelle, l'IC est l'une des principales causes d'hospitalisation dans le monde et engendre une détérioration importante de la qualité de vie des patients.

2. Définition

Selon la Société Européenne de Cardiologie (ESC), le terme « IC » désigne un syndrome clinique qui décrit l'incapacité du cœur à maintenir un débit sanguin nécessaire au bon fonctionnement de l'organisme. Cela se traduit notamment par la présence d'un ensemble de symptômes (dyspnée, œdème) et de signes caractéristiques (tachycardie, polypnée, râles crépitants pulmonaires, turgescence jugulaire) associés à des anomalies structurelles et/ou fonctionnelles du myocarde au repos (cardiomégalie, souffle cardiaque, anomalie échographique) entraînant un débit cardiaque réduit et/ou des pressions intracardiaques élevées au repos ou à l'effort.

3. Classification

a. Insuffisance cardiaque chronique ou aiguë

L'**IC aiguë** se distingue de l'**IC chronique** lorsqu'elle résulte de l'apparition brutale de symptômes ou de signes cliniques d'IC requérant une attention immédiate. Elle peut se développer de novo après un infarctus du myocarde, une infection, ou être décompensée à la suite d'une cardiomyopathie sous-jacente (Kurmani and Squire 2017).

Selon sa définition, l'**IC chronique** fait référence à un état stable et progressif dans lequel les patients peuvent initialement connaître au repos un état asymptomatique. Ils peuvent ensuite présenter des symptômes en l'absence d'une prise en charge et de traitement efficace.

b. Classifications ACC/AHA et NYHA

Cette pathologie chronique peut rester stable pendant plusieurs années bien qu'il s'agisse d'une maladie évolutive décrite en quatre stades, par deux systèmes de classification complémentaires produits par la New York Heart Association (NYHA) et l'American College of Cardiology/American Heart Association (ACC/AHA). Ces systèmes permettent une stratification des patients suivant l'avancement de la pathologie (Rossi 1967; Hunt et al. 2001) (*tableau 2*).




New York Heart Association (NYHA)		American College of Cardiology/American Heart Association (ACC/AHA)	
Description	Classes	Stades	Description
Activité physique non limitée Absence de symptômes à l'effort	I 	A	
		B	IC asymptomatique avec anomalies structurelles cardiaques
Absence de symptômes au repos. Légères fatigue, dyspnée ou palpitations lors l'activité physique	II	C	IC symptomatique avec anomalies structurelles
Limitation importante de l'activité physique en l'absence de symptômes au repos. L'activité physique induit une fatigue, dyspnée ou des palpitations.	III		
Inconfort lors d'une activité physique. Symptômes d'IC présents au repos.	IV 	D 	IC avec anomalies structurelles prononcées et symptomatiques au repos malgré une prise médicamenteuse.

Tableau 2 : Stades de progression de l'IC selon les classifications NYHA et ACC/AHA
Adapté de Hunt et al. 2001 et Rossi 1967

Le système NYHA évalue l'incapacité fonctionnelle des patients en fonction du degré des symptômes (fatigue, dyspnée), tandis que le système de l'ACC/AHA se base principalement sur l'atteinte structurelle et/ou fonctionnelle cardiaque afin d'établir le stade de l'IC.

c. Classification échographique selon la fraction d'éjection ventriculaire gauche (FEVG)

La mesure échographique de la fraction d'éjection du ventricule gauche (FEVG) chez les patients présentant un tableau clinique d'IC est devenue un marqueur phénotypique cliniquement pertinent. Cette mesure échographique ou par imagerie par résonance magnétique suggère certains mécanismes physiopathologiques et peut être un indicateur de future réponse aux traitements. Ainsi, en fonction des critères échographiques, **l'ESC distingue depuis 2016, trois types d'IC sur la base de la FEVG** (Ponikowski et al. 2016) :

- IC avec une FEVG réduite $\leq 40\%$ (ICFEr) également appelée IC systolique
- IC avec une FEVG moyenne comprise entre 40 et 49 % (ICFEm) ou IC intermédiaire
- IC avec une FEVG préservée $\geq 50\%$ (ICFEp) ou IC diastolique

Après la section introductive et pour les besoins de cette thèse, nous nous concentrerons plus particulièrement sur les caractéristiques de l'ICFEp chronique.

b) L'insuffisance cardiaque à fraction d'éjection préservée

1. Épidémiologie

Bien que les estimations diffèrent selon les études, la prévalence de l'ICFEp augmente par rapport à celle de l'ICFEr d'environ 10 % tous les dix ans. **Près de la moitié des patients souffrant d'IC sont atteints d'ICFEp**, comme l'a montré l'étude Olmsted, dont la prévalence est passée de 38 % en 1987 à 54 % en 2001 (Owan et al. 2006; Dunlay, Roger, and Redfield 2017).

Il est important de noter qu'une théorie d'un « continuum entre ICFEp et ICFEr » a été mise en avant, selon laquelle l'ICFEp et l'ICFEr pourraient représenter les mêmes mécanismes physiopathologiques évoluant d'un stade à l'autre. Cependant, l'absence de réponse aux thérapies utilisées pour traiter l'ICFEr chez les patients atteints d'ICFEp suggère une cause physiopathologique différente (Borlaug and Redfield 2011). En effet, bien que plusieurs traitements existent pour l'ICFEr, notamment les bêta-bloquants et les médicaments ciblant le système rénine-angiotensine-aldostérone (SRAA) ; aucun de ces traitements ne s'est encore avéré efficace pour l'ICFEp malgré de multiples essais randomisés, hormis les inhibiteurs du co-transporteur sodium-glucose 2 (SGLT2) avec un effet modéré (*cf. partie traitements dans l'ICFEp*) (Ponikowski et al. 2016; Pfeffer, Shah, and Borlaug 2019).

La mortalité attribuable à l'ICFEP n'est pas aussi élevée que celle de l'ICFER (Campbell et al. 2012). En revanche, les réadmissions à l'hôpital sont plus nombreuses (Lam et al. 2018). En outre, contrairement à l'ICFER, la mortalité non cardiovasculaire est plus élevée que la mortalité d'origine cardiaque. Cette différence est due à divers facteurs de risque, cardiovasculaires et non cardiovasculaires, qui sont très répandus chez les patients ICFEP (Ho et al. 2016; Tsao et al. 2022; Loungani et al. 2020).

2. Physiopathologie

À l'heure actuelle, la physiopathologie de l'ICFEP est encore inconnue, complexe et multifactorielle. Elle est caractérisée par une interaction complexe entre des modifications hémodynamiques (dysfonction diastolique, dysfonction auriculaire), des altérations structurelles myocardiques (Hypertrophie ventriculaire, altération du cytosquelette et du cycle du calcium), une dysfonction endothéliale (activation, vasodilatation) et une inflammation (Borlaug 2014).

a. Dysfonction diastolique

L'ICFEP est très souvent appelée « insuffisance cardiaque diastolique ». On définit la dysfonction diastolique du VG par une altération de la relaxation ou/et une altération de la compliance, provoquant l'augmentation des pressions de remplissage au repos ou à l'effort (Obokata, Reddy, and Borlaug 2020). On observe majoritairement un dysfonctionnement diastolique (environ 2/3 des patients) (Zile et al. 2011), mais il n'est pas forcément nécessaire au développement de l'ICFEP (Nayor et al. 2018). Globalement, on observe une altération des mécanismes actifs et passifs affectant le remplissage passif du VG. Celui-ci va dépendre principalement de la contraction auriculaire pour se remplir (40 % environ contre 20 % en temps normal).

On distingue trois stades de dysfonction diastolique souvent décrits comme étant successifs dans l'aggravation de la fonction diastolique (Zile and Brutsaert 2002; Kadry et al. 2020) (*figure 11*) :

— **Au premier stade, on observe une altération de la relaxation sans modification des pressions de remplissage.** Une perte des mécanismes de remplissage passif est observée au profit de la contraction atriale (Ratio E/A < 0,8 ; IVRT >120 ms).

— **Au second stade le remplissage est « pseudo-normal »**, le rapport E/A et l'IVRT sont normaux. En revanche, la pression télédiastolique est élevée.

— **Au troisième stade dit « restrictif »**, une forte altération de relaxation et de pression télédiastolique est observée. (Ratio E/A >1,5 ; IVRT court : <70 ms)

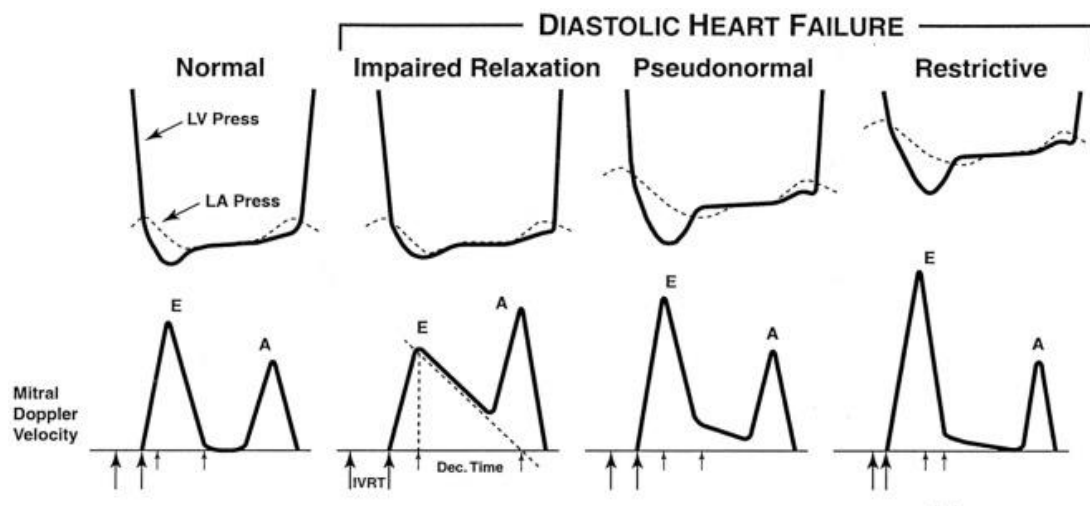


Figure 11 : Stades de l'insuffisance cardiaque diastolique en doppler transmitral

Adapté de (Panesar and Burch 2017)

LV press: Pression ventriculaire gauche ; LA press : pression auriculaire gauche, IRVT temps de relaxation isovolumique.

Comme nous l'avons vu dans la partie concernant le couplage excitation-contraction, la compliance et la relaxation du VG sont étroitement liées à celles des cardiomyocytes dont les propriétés sont altérées avec l'ICFÉp.

b. Fonctions cardiomyocytaires altérées

L'une des caractéristiques physiopathologiques de l'ICFÉp est la présence d'une dysfonction cardiomyocytaire (hypertrophie, rigidité passive, cycle calcique intracellulaire) entraînant des répercussions sur la fonction cardiaque et plus particulièrement la fonction diastolique (*figure 13*).

i. Hypertrophie cardiomyocytaire

L'hypertrophie concentrique a longtemps été considérée comme une caractéristique de l'ICFÉp, mais il s'avère que tous les patients n'en développent pas (Redfield and Borlaug 2023; Zile et al. 2011).

Dans ce type d'hypertrophie qui représente environs 30% des patients, le diamètre des cardiomyocytes augmente sans modification de leur longueur. Cela provoque une augmentation de l'épaisseur des parois ventriculaires et une diminution du volume ventriculaire en réponse à l'augmentation de pressions de remplissage. En conséquence, une réduction des volumes ventriculaires, une anomalie de la relaxation, du remplissage et de l'éjection du sang sont observés. D'après la loi de Laplace (Contrainte de la paroi = [pression × rayon]/[2× épaisseur de la paroi]), cette augmentation d'épaisseur permet de réduire les contraintes auxquelles la paroi est soumise (Heinzel et al. 2015). Ensuite, chez 30 % des patients, la géométrie ventriculaire est normale. Enfin, pour environ 25 % d'entre eux, un remodelage

concentrique sans hypertrophie est observé et une minorité (environ 15%) développe une hypertrophie excentrique (Zile et al. 2011; Persson et al. 2007). Il est proposé que l'hypertrophie est étroitement liée aux comorbidités associées à l'ICFep et en particulier l'hypertension (figure 12). Moléculairement, l'hypertrophie serait provoquée par le stress oxydatif, l'inflammation et des modulations de la PKG (van Heerebeek et al. 2012).

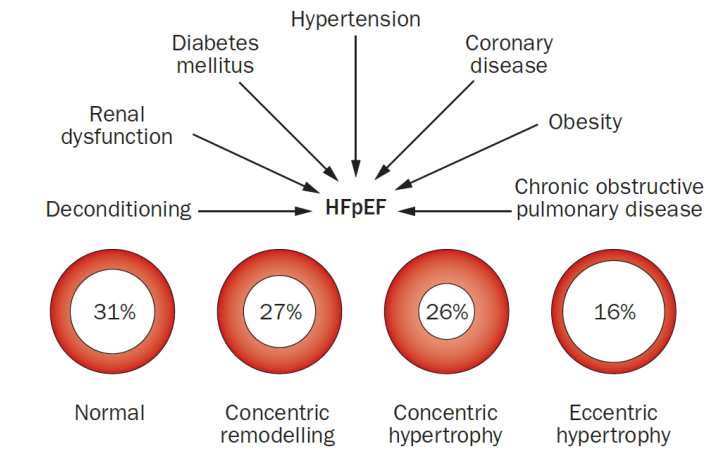


Figure 12 : Incidence du remodelage cardiaque dans l'ICFep
Adapté de (A. M. Shah and Pfeffer 2012)

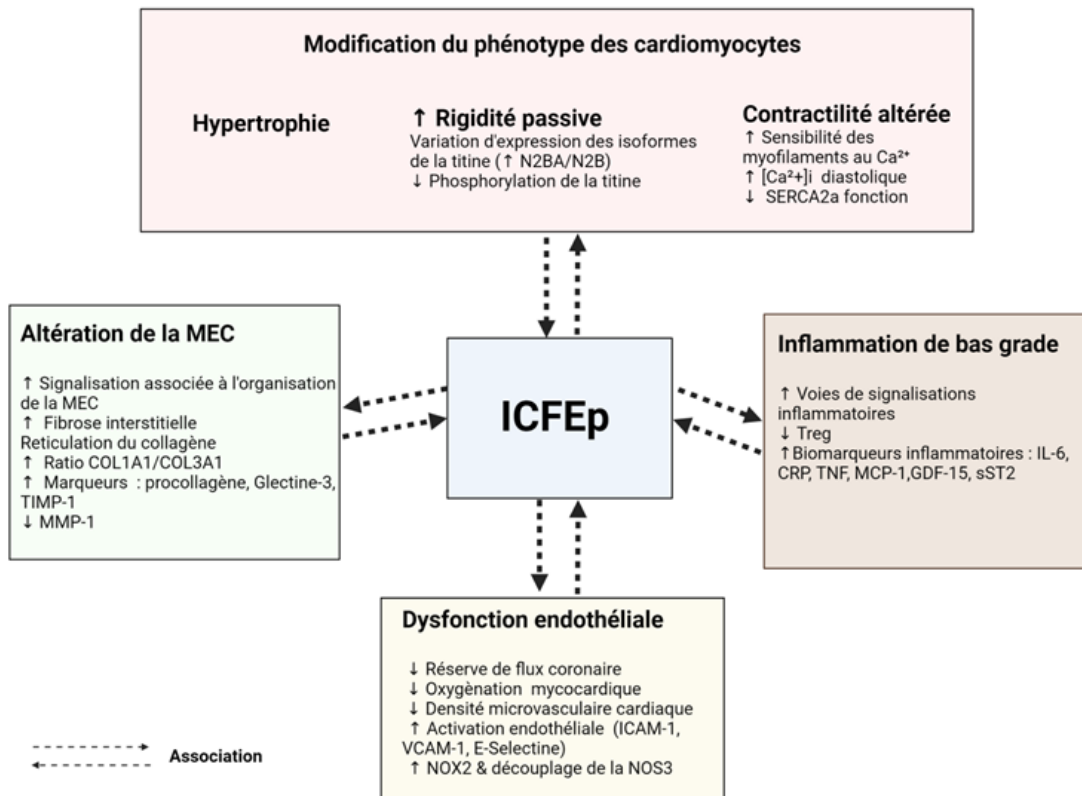


Figure 13: Physiopathologie de l'ICFep

ii. Modulation de la titine

L'altération de la compliance myocardique chez les patients atteints d'ICFEP se traduit par une modulation de l'expression des isoformes de la titine et de leur phosphorylation impactant la rigidité passive cardiomyocytaire (figure 13) (Linke and Hamdani 2014; Hamdani, Krysiak, et al. 2013; van Heerebeek et al. 2012; Zile et al. 2015).

En effet, un changement des isoformes en faveur d'une augmentation du ratio N2BA/N2B (0,3 à 0,73) a été mis en évidence chez ces patients (Borbély et al. 2009) comme étant un mécanisme compensatoire à l'augmentation de collagène (Nagueh et al. 2004) et à l'élévation des $[Ca^{2+}]_i$ diastoliques (Najafi et al. 2019). Dans un modèle murin, Mathawasin et ses collaborateurs mettent en évidence qu'une régulation de l'expression des isoformes permet d'améliorer la fonction diastolique (Mathawasin et al. 2014). Il est proposé que l'utilisation de polymères de laminine (impliquée dans la transmission des signaux extracellulaires d'origine biomécanique) pourrait permettre d'améliorer la rigidité passive en modulant leur expression et leur phosphorylation (Hochman-Mendez, Curty, and Taylor 2020).

La perte de compliance ventriculaire accrue chez les patients est associée à une hypophosphorylation du domaine « élastique » N2B par les protéines kinase PKA et PKG (Borbély et al. 2009; Hamdani, Krysiak, et al. 2013; Krüger et al. 2009; Zile et al. 2015). En outre, la CaMKII δ et la PKC ont été rapportées comme augmentant la rigidité passive en phosphorylant toutes les deux le domaine PVEK (C. Hidalgo et al. 2009; C. G. Hidalgo et al. 2013; Hudson et al. 2010). En revanche, elles l'améliore avec la phosphorylation du domaine N2B (Hamdani, Krysiak, et al. 2013). Une altération de leur phosphorylation peut survenir dans l'ICFEP (Zile et al. 2015).

iii. Altération de la contractilité

Le cycle du Ca^{2+} intracellulaire est essentiel à la contraction et à la relaxation du cardiomyocyte (cf. partie cycle du calcium). **La relaxation dépend à la fois de la $[Ca^{2+}]_i$ en diastole et de la sensibilité des myofilaments au Ca^{2+} (figure 13).**

La désensibilisation des myofilaments au Ca^{2+} dépend majoritairement de la phosphorylation par la PKA de la troponine I et de la myosin binding protein C (MyBPC) (P. P. Chen et al. 2010). Ainsi, il a été démontré qu'une hypo phosphorylation par la PKA de la MyBPC participe à l'altération de la relaxation cardiaque dans un modèle murin d'ICFEP (Rosas et al. 2015) ainsi que dans l'hypertension (Donaldson et al. 2012; Hamdani, Bishu, et al. 2013). Une augmentation de la sensibilité des

myofilaments au Ca^{2+} par une hypo phosphorylation de la troponine I a également été rapportée dans des modèles canins d'ICFEP (Hamdani, Bishu, et al. 2013).

Dans un modèle de rat, il a été mis en évidence une augmentation de la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ diastolique et de l'amplitude du transitoire associée à une altération des RyR2 et de l'échangeur NCX (Rouhana et al. 2019). Curl et collaborateurs dans un modèle de rats (Hypertrophic Heart Rat) associent le défaut de relaxation (ratio E/E' augmenté) à une élévation de $[\text{Ca}^{2+}]_i$ en diastole et en systole en réponse à l'augmentation de l'activité des canaux calciques de type L (Curl et al. 2018).

Ainsi, l'une des limites à l'augmentation de la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ en diastole est la nécessité de désactiver les myofilaments pour permettre le remplissage ventriculaire. La décroissance du transitoire calcique est largement due à la recapture du Ca^{2+} vers le réticulum sarcoplasmique ainsi qu'à son extrusion par l'échangeur NXC. Une diminution de l'activité de la SERCA2a peut augmenter la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ diastolique et diminuer la transitoire (Sankaranarayanan et al. 2017). Une perte d'activité de la SERCA2a, peut être liée à glycation (Bidasee et al. 2004) dont nous détaillerons plus tard le principe (*cf Lien entre comorbidités et ICFEP, partie diabète*) ou au stress oxydatif (Qin et al. 2013). Dans un modèle murin de diabète de type 2 (Lepr^{db/db}) développant une dysfonction diastolique avec rigidité passive (Hamdani et al. 2014), le ratio SERCA2a/PLN est diminué en faveur d'une inhibition de son activité (Belke, Swanson, and Dillmann 2004). Une baisse de ce ratio est également observée dans des modèles de rats d'ICFEP (Dupont et al. 2012; Miranda-Silva et al. 2020; Frisk et al. 2021). Le rétablissement de l'équilibre de SERCA2a/PLN par un transfert de gènes améliore la fonction diastolique (Meyer and Dillmann 1998; Miyamoto et al. 2000).

Enfin, l'altération de la relaxation a été reliée dans les modèles expérimentaux (Louch et al. 2010; Frisk et al. 2021) et l'homme à une diminution de l'efflux de Ca^{2+} ou un switch du NCX provoquant une accumulation de sodium intracellulaire (Selby et al. 2011). Il semble important de préciser que l'ensemble des événements cités précédemment perturbant la compliance myocardique semble être lié étroitement au modèle physiopathologique utilisé ainsi qu'à ses comorbidités. Il est proposé que la perte de compliance soit plutôt liée à l'augmentation de la rigidité passive (Røe et al. 2017).

c. Remodelage de la matrice extracellulaire

Des modifications d'expression des collagènes fibrillaires COL1A1 et COL3A1 ou leur réticulation peuvent altérer de manière significative la compliance myocardique (figure 13).

Chez certains patients atteints d'ICFEP, le ratio COL1A1/COL3A1 est augmenté (Kasner et al. 2011; Westermann et al. 2011) entraînant une perte de compliance myocardique (Wei et al. 1999).

Des études sur les biomarqueurs ont révélé des voies de signalisation distinctes chez les patients ICFEP de celles des patients ICFEr notamment liés à l'organisation de la MEC (Tromp et al. 2017; 2017). Un excès en marqueurs circulants pro collagéniques libérés lors de la synthèse des COL1A1 et COL3A1 (Trippel et al. 2018; 2021; Duprez et al. 2018) est également corrélé à la gravité de la dysfonction

diastolique et prédit la mortalité (Angeli et al. 2022). De plus, les niveaux de Galectin-3 impliqué dans la prolifération myofibroblastique, la fibrogenèse et le remodelage ventriculaire sont également souvent associés à ce type d'IC (de Boer et al. 2013). Un défaut de balance entre dégradation et production de collagène provoque une accumulation de dépôts fibreux dans l'espace interstitiel et de ce fait participe à la perte de compliance (Mohammed et al. 2015; Zile et al. 2015; A. González et al. 2010). Chez ces patients, l'augmentation des inhibiteurs des métalloprotéases matricielles et de leur activité (TIMP-1) (A. González et al. 2010; Westermann et al. 2011), et une diminution de la collagénase MMP-1 (Spinale 2002) favorise la formation de dépôts.

En outre, il est proposé que les réticulations entre les fibres de collagène par la lysyl oxydase (LOX) augmentent davantage la rigidité du myocarde (Muñoz Calvo et al. 2019; Ravassa et al. 2018).

Nous verrons également dans la partie intitulée lien entre comorbidités et IC FEp, que les comorbidités modulent également la synthèse et les propriétés du collagène.

d. Inflammation de bas grade

De nombreuses études réalisées sur les patients atteints d'IC FEp révèlent la présence d'un état inflammatoire systémique et local (figure 13). On observe notamment une baisse des lymphocytes T régulateurs (N. Li et al. 2010), une augmentation des monocytes sanguins (Glezeva et al. 2015a; Westermann et al. 2011), et de l'infiltrat de macrophages tissulaires (Hulsmans et al. 2018) participant au remodelage matriciel dans l'IC FEp.

Les voies de signalisation liées à l'inflammation sont particulièrement modulées par rapport aux patients atteints d'IC FEr (Tromp et al. 2017; 2017). L'évolution de la maladie est principalement influencée par l'inflammation chronique et les patients présentent des élévations plus importantes que ceux atteints d'IC FEr en biomarqueurs inflammatoires circulants tels que la protéine C-réactive (CRP), l'IL-1 (Interleukine 1), le TNF α (Tumor Necrosis Factor α), l'IL-6 (Interleukine 6) et MCP-1 (monocyte chemoattractant protein 1) (DuBrock, AbouEzzeddine, and Redfield 2018; Sanders-van Wijk et al. 2020; Mesquita, Lin, and Ibrahim 2021; Simmonds et al. 2020; Chia et al. 2021; van Heerebeek et al. 2006; Abernethy et al. 2018; Collier et al. 2011). L'élévation de ces cytokines et biomarqueurs inflammatoires est très souvent associée à un mauvais pronostic chez les patients atteints d'IC FEp (Chirinos et al. 2020). En outre, les principaux marqueurs inflammatoires suggérés dans les études cliniques pour leur valeur pronostique sont le GDF-15 (Growth differentiation factor 15), le sST2 (Soluble suppression of tumorigenicity 2) et la CRP (Mendez Fernandez et al. 2020; Najjar et al. 2019; Matsubara et al. 2011).

En effet, contrairement au BNP (Brain Natriuretic Peptide), il a été démontré que les niveaux de GDF-15 ne sont pas affectés par la présence d'une fibrillation atriale (Santema et al. 2020), et sont plus élevés chez les patients atteints d'IC FEp que chez les individus sains (Stahrenberg et al. 2010). Mendez Fernandez et collaborateurs ont suggéré que les taux circulants de GDF-15 prédisent de manière plus

précise une issue défavorable que la mesure des peptides natriurétiques (NT-proBNP) chez les patients atteints d'ICFep (Mendez Fernandez et al. 2020). En réponse à l'inflammation, ce facteur ayant des effets anti-inflammatoires et anti-apoptotiques est produit et libéré par les cellules cardiovasculaires et non cardiovasculaires (Wollert, Kempf, and Wallentin 2017).

Dans certaines études cliniques, l'augmentation de ST2 soluble (sST2) est liée à un mauvais pronostic et prédit le décès des patients atteints d'ICFep (Najjar et al. 2019; Aimo et al. 2019; Y. Song et al. 2020; AbouEzzeddine et al. 2017). Les taux élevés de sST2 en réponse à l'inflammation et la surcharge hémodynamique atténuent les effets anti-apoptotiques, anti-hypertrophiques, anti-fibrotiques et anti-inflammatoire de l'interaction entre l'IL-33 et son récepteur ST2 (Suppression of Tumorigenicity 2) (Pascual-Figal and Januzzi 2015; Aimo et al. 2019).

Enfin, les niveaux sériques des marqueurs inflammatoires de la famille des Pentraxines : CRP et Pentraxin-3 (PTX3) sont également augmentés et corrélés à la présence d'une dysfonction diastolique chez les patients atteints d'ICFep (Matsubara et al. 2011).

Cet état pro-inflammatoire chronique est proposé comme induisant une dysfonction endothéliale microvasculaire coronaire pouvant occasionner des changements ultérieurs dans le système de coagulation (Walter J. Paulus and Tschöpe 2013).

e. Dysfonction endothéliale

Il a été mis en évidence par tonométrie artérielle (Borlaug et al. 2010; Akiyama et al. 2012) et par mesure de la dilatation médiée par le flux de l'artère brachiale (Maréchaux et al. 2016), une altération de la fonction endothéliale systémique chez les patients atteints d'ICFep par rapport à des individus sains (*figure 13*). Cette atteinte de dilatation médiée par le flux est corrélée avec la sévérité de la dyspnée et de la fatigue lors d'un exercice sous-maximal (Borlaug et al. 2010).

D'autres études identifient également une dysfonction microvasculaire systémique chez ces patients (Maréchaux et al. 2016; Yüksel, Yüksel, and Meriç 2021). **La dysfonction endothéliale n'est pas seulement systémique et toucherait également les vaisseaux coronaires cardiaques chez environ les ¾ de ces patients avec ICFep.** En effet, les analyses par échographie (S. J. Shah et al. 2018a), par angiographie (Sucato et al. 2015), tomographie cardiaque par émission de positrons (Srivaratharajah et al. 2016) et par résonance magnétique cardiaque (Kato et al. 2016; Löffler et al. 2019) mettent en évidence une réserve de flux myocardique coronaire inférieure chez ces patients.

Cette atteinte microvasculaire coronaire cardiaque dans l'ICFep a été confirmée dans l'essai clinique PROMIS-HFpEF dans lequel la réserve de flux coronaire était corrélée aux marqueurs de sévérité d'IC (S. J. Shah et al. 2018a). Dans leur cohorte de patients ICFep, Yang et collaborateurs identifient pour 72% d'entre eux une dysfonction coronaire microvasculaire. Cette dysfonction était liée chez ces patients à 29 % à un défaut de vasodilatation endothélium dépendante et à 33 % un défaut de vasodilatation endothélium indépendante (Yang et al. 2020). L'atteinte diastolique et la mortalité

étaient plus importantes pour les patients ayant un défaut de vasodilatation indépendant de l'endothélium. Plus récemment, Fischer et collaborateurs ont identifié un défaut d'oxygénation secondaire à une dysfonction microvasculaire cardiaque coronaire chez 96 % des patients avec ICFEp (Fischer et al. 2022).

Ces résultats d'imagerie indiquent la présence d'une dysfonction microvasculaire coronaire. Cela également été visualisé lors des analyses histologiques sur biopsies cardiaques post-mortem avec notamment, une densité microvasculaire cardiaque plus faible (Mohammed et al. 2015). Les marqueurs d'activation endothéliale sont également augmentés chez ces patients (Franssen et al. 2016a) (E-selectine circulante, ICAM-1, molécule d'adhésion cellulaire vasculaire 1 [VCAM-1]) et semblent avoir un rôle pronostic dans l'ICFEp (Walter J. Paulus 2020). En outre, la voie du NO/GMPc/PKG est altérée avec une augmentation de l'expression de la NADPH Oxidase 2 (NOX2) dans les macrophages et les CE et un découplage de la Nitric oxide synthase endothéliale (NOS3).

Chez ces patients, l'augmentation du marqueur d'atteinte endothéliale vWF est étroitement liée à celle des cytokines pro-inflammatoires et peut être utilisée comme marqueur de la sévérité et du pronostic des patients atteints d'ICFEp (Abudoukelimu et al. 2022a; Kleber et al. 2015a).

f. Conclusion physiopathologie de l'ICFEp

Malgré les nombreuses études cliniques qui ont tenté de couvrir les bases cellulaires et moléculaires du développement de l'ICFEp, à l'heure actuelle il n'existe aucune compréhension complète de sa physiopathologie. L'absence de compréhension globale et détaillée des mécanismes sous-jacents découle de l'interaction complexe entre de multiples facteurs impliqués dans la physiopathologie de l'ICFEp. Cependant il est relativement admis, à partir d'observations cliniques, que la physiopathologie repose sur une dysfonction diastolique associé à une modification du phénotype des cardiomyocytes, une inflammation systémique, un remodelage matriciel et une dysfonction endothéliale. La nature hétérogène de la présentation et de la progression de l'ICFEp est en partie liée à son association à plusieurs comorbidités et facteurs de risque qui ajoutent une couche supplémentaire de complexité à l'étiologie. Dans l'ensemble, outre la compréhension globale de la base moléculaire, la gestion des facteurs de risque, la détermination et le suivi des groupes à risque sont essentiels à la compréhension de la physiopathologie.

3. Facteurs de risque

a. Épidémiologie des facteurs de risque associés à l'ICFÉp

Les principales différences entre les patients ICFÉp et les patients ICFEr sont qu'il s'agit souvent de femmes plus âgées et plus susceptibles d'avoir des antécédents d'hypertension artérielle (HTA), d'obésité, de fibrillation atriale (FA) et de diabète de type 2 (DT2) (Reddy and Borlaug 2016). Le pronostic de ces patients est beaucoup plus sombre que celui des patients présentant uniquement des comorbidités dans la même tranche d'âge et la même répartition des sexes. En outre, la prévalence des comorbidités (hypertension artérielle [HTA], DT2, l'obésité, FA, insuffisance rénale chronique) est beaucoup plus importante dans l'ICFÉp que dans la population générale (figure 14). En effet, l'augmentation de la prévalence de l'ICFÉp ces dernières décennies est étroitement corrélée à celle de l'ensemble des facteurs de risques cardiovasculaires qui lui sont associés (tableau 3).

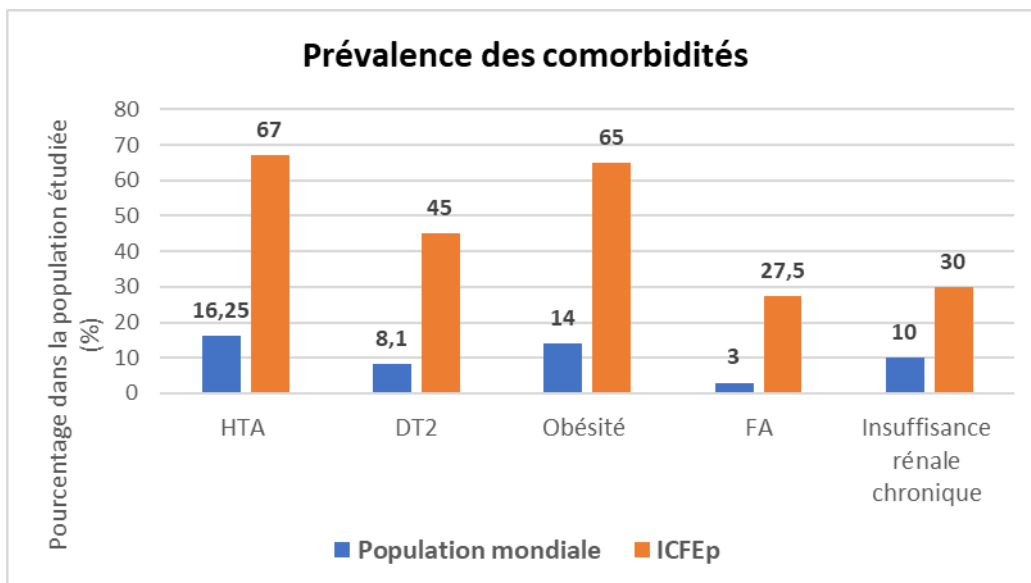


Figure 14 : Prévalence des comorbidités dans la population générale et dans l'ICFÉp

Facteur de risque	Prévalence dans la population	Prévalence dans l'ICFep
<p>Hypertension artérielle</p>	<p>En 2023 dans le monde : (Organisation mondiale de la santé) - 1,28 milliard d'adultes (30 à 79 ans) - 2/3 des cas dans des pays à revenus faibles ou intermédiaires - 42 % diagnostiqués</p> <p>En 2015 en France (Cohorte ESTEBAN) (Vallée et al. 2020) : - 31,3 % (18 à 74 ans) - 68,8 % (65 à 74 ans) - 50 % des patients conscients - Observance thérapeutique 1/3</p>	<p>Entre 55 et 80 % (Dhingra et al. 2014; Garg et al. 2013)</p>
<p>Diabète</p>	<p>En 2023 dans le monde : ("Global Diabetes Data Report 2000 — 2045" n.d.). - 9 % (537 millions) des adultes - 90 % de diabète de type 2</p> <p>Prévision 2045 : - Supérieur à 11 % des adultes</p>	<p>Environ 45 % (McHugh et al. 2019; Echouffo-Tcheugui et al. 2016)</p>
<p>Obésité</p>	<p>Entre 1980 et 2020 : (NCD Risk Factor Collaboration [NCD-RisC] 2016) - Incidence multipliée par 6</p> <p>Entre 1999 et 2018 aux Etats-Unis chez l'adulte : (Tsao et al. 2022) - ↗ 12,5 % de l'obésité - ↗ 4,5 % de l'obésité morbide</p> <p>En 2020 dans le monde : (World obesity atlas 2023) - 2,6 milliards d'adultes en surpoids - 14 % d'obèses - D'ici 2035 : 4 milliards en surpoids et 24 % d'obèses</p> <p>En 2020 en France : (Fontbonne et al. 2023) - 50 % en surpoids (IMC > 25 kg/m²) - 17 % d'obèses (IMC > 30 kg/m²) - 2 % morbide (IMC > 35 kg/m²)</p>	<p>Entre 50 et 80 % (J. R. Kapoor and Heidenreich 2010; Haass et al. 2011)</p>

<p>Fibrillation atriale</p>	<p>Arythmie cardiaque la plus répandue : (Benjamin et al. 2019) - 2 à 4 % des adultes - ↗ avec âge</p>	<p>Selon les études entre 15 à 40 % (Kotecha et al. 2016)</p>
<p>Insuffisance rénale chronique</p>	<p>En 2023 dans le monde : - 10 % des adultes - 1 à 2 millions de décès</p> <p>Prévision à 2040 : (Kalantar-Zadeh et al. 2021) - 5^{ème} cause de mortalité</p>	<p>« Syndrome cardio-rénal » entre 20 et 50 % (ter Maaten et al. 2016)</p>
<p>Vieillesse</p>	<p>Espérance de vie à la naissance en France en 2022 : (“Espérance de Vie à La Naissance En 2022 - France - TABLEAU DE BORD DE L'ÉCONOMIE FRANÇAISE” n.d.)INSEE) - ♀ 85,2 ans - ♂ 79,3 ans</p> <p>Dans le monde : (Organisation mondiale de la santé) - de 66,8 ans en 2000 à 73,4 ans en 2019</p>	<p>Après 65 ans : doublement de l'incidence chaque décennie (Ho et al. 2016)</p> <p>Fort prédicteur de mortalité (Tribouilloy et al. 2008; Chan and Lam 2013)</p>
<p>Sexe Féminin</p>	<p style="background-color: black; color: black;">[REDACTED]</p>	<p>> 50 % (Tibrewala and Yancy 2019; Borlaug and Redfield 2011; Groenewegen et al. 2020a)</p>

Tableau 3 : Epidémiologie de l'ICFep et de ses facteurs de risque associés

b. Lien entre comorbidités et ICFep

Les facteurs de risque jouent un rôle prépondérant dans la physiopathologie de l'ICFep et contribuent aux nombres importants de réadmissions (R. K. Cheng et al. 2014; Nichols et al. 2015) et à la mortalité élevée (Dunlay et al. 2011). Ils participent également à la grande diversité phénotypique des patients (Loungani et al. 2020). Ainsi, sur la base de nombreuses études menées sur des cohortes de patients ICFep, il a été déterminé que l'obésité, l'HTA, le DT2, la FA, l'insuffisance rénale chronique, le vieillissement, et le sexe féminin favorisent le développement de cette pathologie par l'intermédiaire de modifications moléculaires et fonctionnelles (S. J. Shah et al. 2020).

i. HTA

L'HTA est caractérisée par une élévation anormale de la pression artérielle systémique. Un patient souffre d'HTA lorsque sa pression artérielle systolique et diastolique dépasse respectivement 140 et 90 mmHg. La présence de cette pathologie influence le développement d'événements cardiovasculaires tels que l'AVC, l'insuffisance rénale chronique et l'athérosclérose (Luo et al. 2020; F. D. Fuchs and Whelton 2020; D. Zhou et al. 2022) et l'ICFep. Indépendamment de l'âge, le risque de mortalité cardiovasculaire double à chaque hausse de 20/10 mmHg de la pression artérielle systolique/diastolique, respectivement (Lewington et al. 2002).

Les effets délétères de l'HTA sur la fonction cardiaque dans l'ICFep sont médiés majoritairement par l'activation du SRAA, la dysfonction endothéliale et l'augmentation de la rigidité artérielle (figure 15) (Izzo 2004; Serné et al. 2007; Brandes 2014).

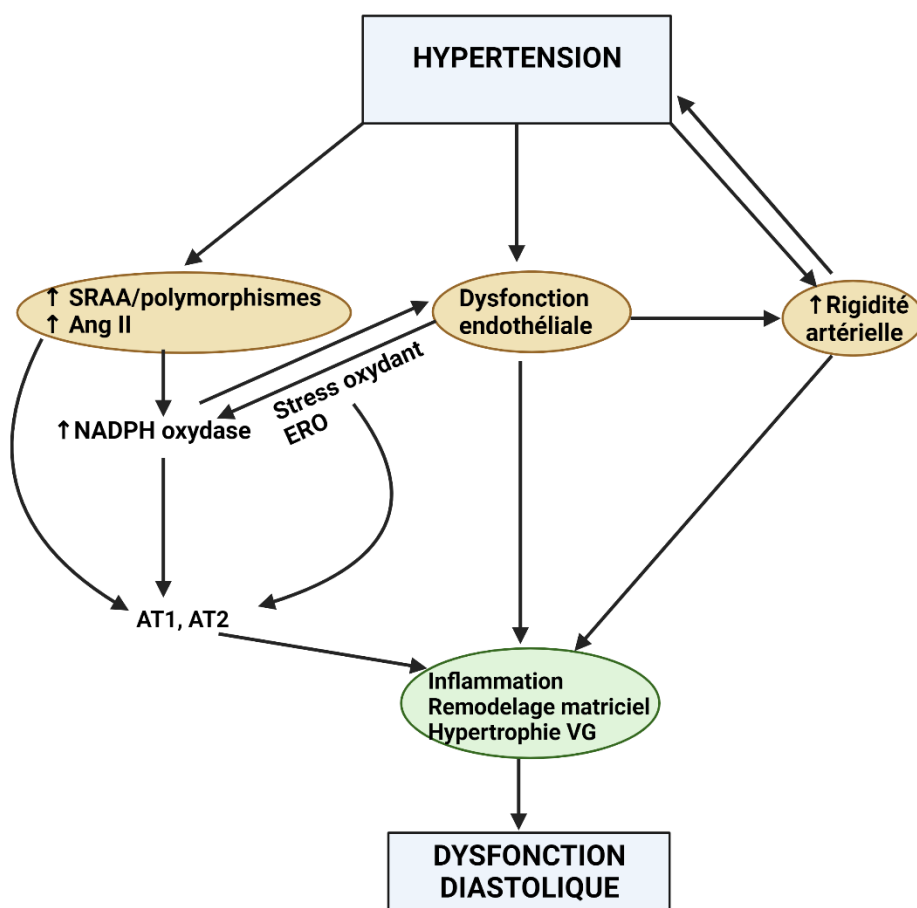


Figure 15 : Physiopathologie de la dysfonction diastolique du VG secondaire à une HTA

TNF: Tumor Necrosis Factor; MCP-1: Protéine chimiotactique monocyte-1, GDF-15: Growth differentiation factor 15; NOX2: Nicotinamide adénine dinucléotide phosphatase 2; sST2: Soluble suppression of tumorigenicity 2

En cas d'hypertension, l'Ang II va induire une augmentation de l'activité de la NADPH oxydase des CE, des cellules musculaires lisses et des cellules adventitielles via ses effets sur les récepteurs à angiotensine AT1 et AT2 (figures 15 et 16). Cela va favoriser la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et activer des voies de signalisation des mitogen-activated protein kinases (MAPK), des tyrosines kinases, des phosphatases, des canaux calciques, et des facteurs de transcription sensibles à l'oxydoréduction. Cette activation va ensuite stimuler l'expression de gènes pro-inflammatoires (TGFβ) et la production de protéines matricielles (collagène, protéoglycanes, élastine, fibrine) va être stimulée (te Riet et al. 2015).

Chez les patients atteints d'ICFep, les taux en enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA) sont élevés, mais son activité est comparable à celle des individus sains (Negi et al. 2015). Il est proposé que des polymorphismes du gène du SRAA participent davantage au développement de l'ICFep (figure 15). Ces polymorphismes étant associés à une hypertrophie du VG chez les patients pourraient être utilisés en tant que marqueur prédictif de l'ICFep chez les individus hypertendus (Bahramali et al. 2017; 2016).

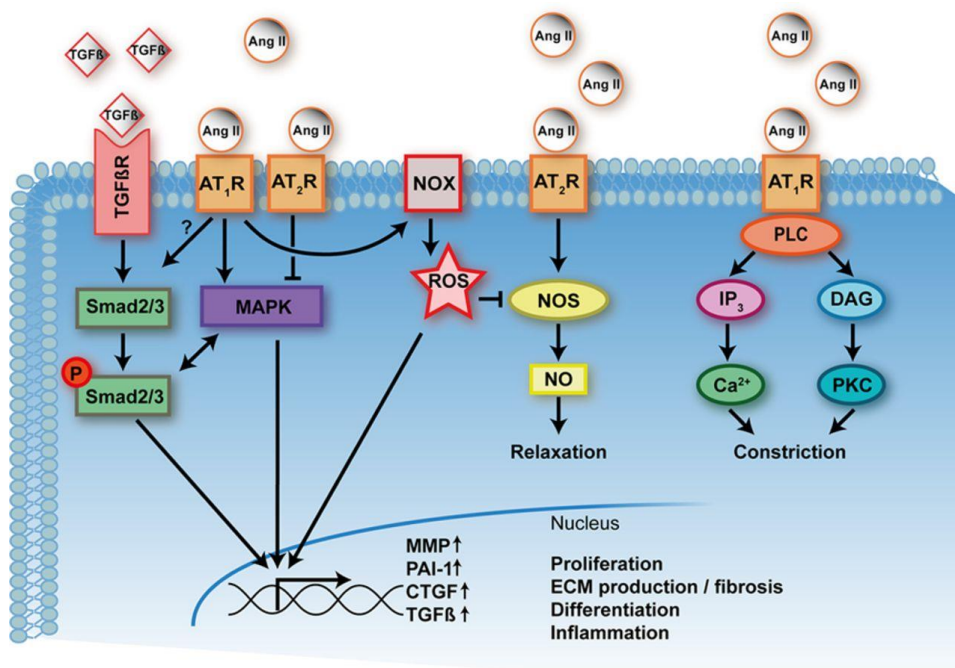


Figure 16 : Effets de l'angiotensine II sur le remodelage vasculaire et la constriction/vasodilatation

Adapté de te Riet et al. 2015. La signalisation du TGF-β (via la voie Smad2/3) et l'activation de la MAPK après stimulation du récepteur AT1 régulent conjointement la transcription de gènes cibles (MMP, PAI-1; CTGF (connective tissue growth factor)). Cela entraîne la prolifération, la production de matrice extracellulaire/fibrose, la différenciation et l'inflammation. La stimulation du récepteur AT1 augmente la régulation de la NAD (P) H oxydase (NOX), augmentant ainsi la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), ce qui régule également la transcription des gènes cibles. La stimulation des récepteurs AT2 inhibe cette voie en bloquant la MAPK. Les récepteurs AT2 induisent également une vasorelaxation en activant la NO synthase (NOS). Cela peut contrecarrer les effets constricteurs de la stimulation des récepteurs AT1 (médiés par les voies de l'inositol trisphosphate [IP3]-Ca²⁺ et du diacylglycérol [DAG]-protéine kinase C [PKC]). Dans des conditions pathologiques, les ROS découplent la NOS, diminuant ainsi la production de NO et facilitant potentiellement la formation de ROS par la NOS.

ii. Le diabète de type 2

Le DT2 est une maladie métabolique caractérisée par une résistance à l'insuline, une hyperinsulinémie et une hyperglycémie (> 1,26 g/L). Lorsqu'elle est présente, cette comorbidité dégrade la qualité de vie, augmente les hospitalisations et favorise la survenue d'autres comorbidités (Kristensen et al. 2017; Dauriz et al. 2017). De nombreuses études ont établi un lien entre le DT2, la dysfonction diastolique et l'hypertrophie cardiaque, ce qui pourrait contribuer à expliquer comment l'ICFep se développe (Bergerot et al. 2018; Gandhi et al. 2016; Kristensen et al. 2017).

L'altération de la sensibilité à l'insuline et l'hyperglycémie chez les DT2 entraînent un état pro-inflammatoire systémique, un état pro-oxydant, une dysfonction endothéliale et des perturbations métaboliques.

En l'absence de DT2, les acides gras libres représentent environ 70 % de l'énergie nécessaire à la contractilité cardiaque, tandis que le métabolisme du glucose représente environ 30 %. En raison d'une résistance à l'insuline et de troubles métaboliques induits par l'hyperglycémie, le cœur passe du métabolisme du glucose et des acides gras libres à une consommation accrue en acides gras libres (Rodrigues, Cam, and McNeill 1998) (*figure 17*). Ce shift métabolique va être associé à une lipotoxicité cardiaque (Accumulation de triglycérides, production de triacylglycérols, diacylglycérol et de céramides) provoquant l'apoptose des cardiomyocytes. De plus, la β -oxydation des acides gras libres est un processus plus coûteux en oxygène pour produire de l'ATP et va donc favoriser la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Rosano, Vitale, and Fragasso 2006; N. Turner et al. 2014; Mgbemena, Zhang, and Velarde 2021; Cherian, Lopaschuk, and Carvalho 2012). Le stress oxydatif et la lipotoxicité vont ensuite diminuer la biodisponibilité en NO et l'activité de la guanylate cyclase soluble. En conséquence, une perte des effets protecteurs de la protéine kinase G (PKG) sur la rigidité et l'hypertrophie cardiomyocytaire est observée (Tan et al. 2020). Il a également été suggéré qu'une modification du transport des acides gras libres causée par une diminution de l'expression des sirtuines endothéliales (sirtuines 6 et 3) pourrait relier le diabète à l'ICFep (X. Wu et al. 2022; Zeng and Chen 2019).

L'hyperglycémie stimule la synthèse de collagène fibrillaire (Vivek P. Singh, Baker, and Kumar 2008), non-fibrillaire et de fibronectine (Muona et al. 1993). Par conséquent, **un certain nombre de marqueurs sériques profibrotiques qui sont élevés chez les diabétiques sont utilisés comme potentiels biomarqueurs de l'ICFep.** Il s'agit notamment des produits du collagène : propeptide C-terminal du procollagène de type I (COL1A1) (Trippel et al. 2018), du propeptide N-terminal du procollagène de type III (COL3A1) (Duprez et al. 2018; Barchetta et al. 2018; Migdalis et al. 1994). Les taux de l'inhibiteur tissulaire de la protéinase matricielle-1 (TIMP-1) (S. W. Lee et al. 2005) et des marqueurs pro-inflammatoires et pro-fibrotiques : sST2 (soluble suppression of tumorigenesis-2) et galectine-3 sont également à l'étude dans l'ICFep (Yanhua Li et al. 2022; de Boer et al. 2013; AbouEzzeddine et al. 2017; Mgbemena, Zhang, and Velarde 2021).

En outre, l'**hyperglycémie favorise la production d'AGEs** (produits de glycation avancés), qui sont liés aux problèmes macro vasculaires et microvasculaires du diabète (van Heerebeek et al. 2008; Walter J. Paulus and Dal Canto 2018; Varun Parkash Singh et al. 2014) (figure 17). La glycation est une modification post-traductionnelle non enzymatique qui implique la fixation d'oses ou de leurs produits métaboliques sur des groupements protéiques ou lipidiques aminés (Jaisson and Gillery 2018; Goldin et al. 2006). Les AGEs produits vont se lier au récepteur de la glycation avancée (RAGE) à la membrane des cellules cardiaques, provoquant une altération de l'homéostasie calcique et de la contractilité des cardiomyocytes (Hegab et al. 2017). Cette interaction favorise les réponses fibrotique, inflammatoires et la production d'ERO. Ces produits de glycation participent également à la réticulation irréversible de la matrice extracellulaire structurale collagénique, ce qui a pour conséquence de la rendre moins soluble et plus rigide (Tuleta and Frangogiannis 2021; Norton, Candy, and Woodiwiss 1996; Oldfield et al. 2001; Borghetti et al. 2018).

Chez les diabétiques et les patients ICFEp, l'accumulation de tissu adipeux péricardique est importante (X. Jin et al. 2022; van Woerden et al. 2022). Dans ces deux pathologies, l'accumulation favorise la libération de cytokines participant à l'inflammation (Vyas et al. 2021).

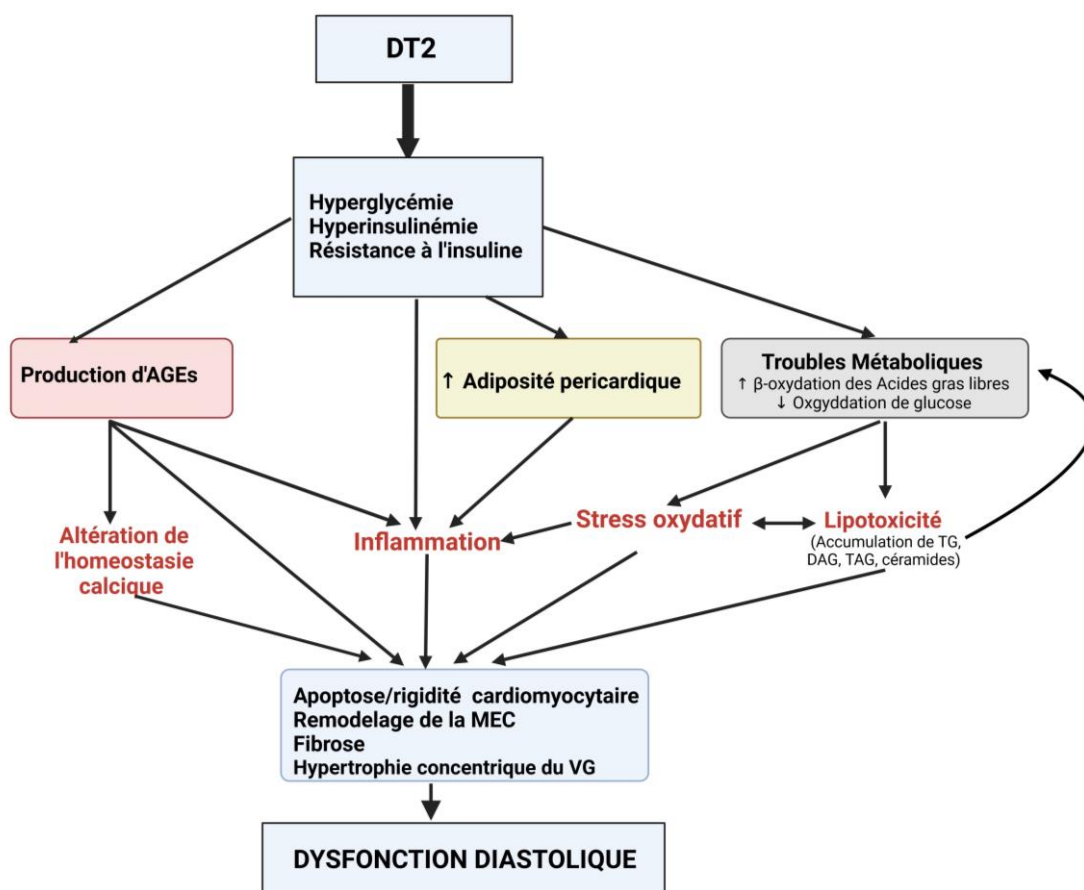


Figure 17 : Physiopathologie du diabète dans l'ICFep

DAG: Diacylglycérol, TG : triglycérides, AGEs : Advanced Glycation End Products

iii. Obésité

Le surpoids et l'obésité sont définis comme une accumulation anormale ou excessive de graisse. Un indice de masse corporelle (IMC) supérieur à 25 indique un surpoids, et un IMC supérieur à 30 une obésité. Dans ce cas, elle favorise l'émergence d'autres comorbidités cardiovasculaires associées à l'ICFep comme le diabète, l'HTA et le syndrome métabolique (Y. Lim and Boster 2022). L'IMC est étroitement corrélé à la dysfonction diastolique (Rozenbaum et al. 2019; Pandey et al. 2017; Obokata et al. 2017) et à l'intolérance à l'effort (Carbone et al. 2016).

L'obésité entraîne des modifications hémodynamiques et biohumorales (SRAA et système nerveux sympathique) qui sont liées à un remodelage cardiaque à la fois fonctionnel et structurel (figure 18). On observe chez ces individus obèses, une abondance de transporteurs de sodium dans les tubules rénaux, une production excessive d'aldostérone et l'activation du système rénine-angiotensine entraînant à la fois une réabsorption accrue de sodium et une expansion du volume plasmatique (Bickel et al. 2001; Koutroumpakis et al. 2021).

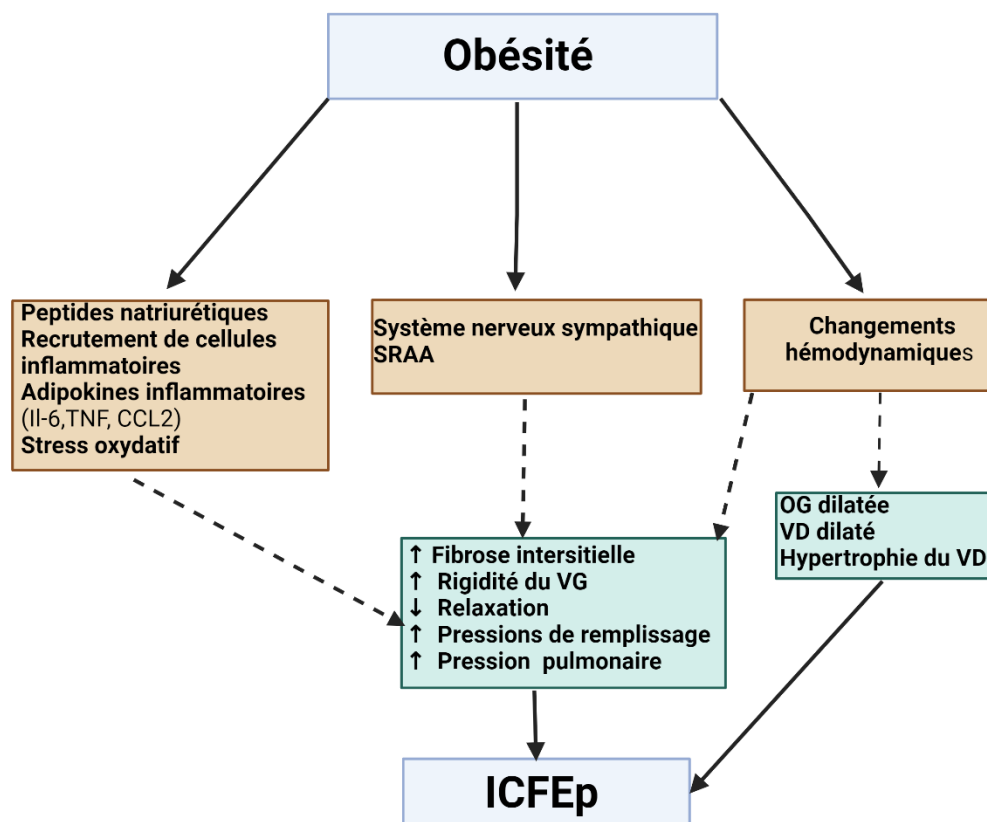


Figure 18 : Physiopathologie de l'association entre obésité et ICFep

Adapté de Tadic and Cuspidi 2019. OG : Oreillette Gauche, CCL2 : chemokine ligand 2 (Monocyte chemoattractant protein 1)

L'accumulation excessive de tissus adipeux (épicaudique et viscéral) entraîne une augmentation du volume sanguin et une diminution de la résistance vasculaire systémique. Par conséquent, ces phénomènes contribuent à l'augmentation du débit cardiaque et provoquent une hypertrophie du VG, un remodelage concentrique et une fibrose (Neeland, Gupta, et al. 2013; Ding, Gupta, and Lip 2020; Mazurek et al. 2003). **La perte de poids, qu'elle soit due à un régime ou à une chirurgie bariatrique, est associée à une amélioration de la fonction diastolique** (Rider et al. 2009; Obokata et al. 2017).

Il a été démontré que l'excès de tissu adipeux viscéral est pro-inflammatoire, en favorisant notamment l'infiltration de cellules inflammatoires (recrutement de monocytes et activation de macrophages) et la libération d'adipokines (IL-6, TNF, et CCL2) (Molica et al. 2015) (*figure 18*). Selon Paulus et Tschöpe, l'inflammation et la modification de l'homéostasie énergétique en faveur de la lipolyse contribuent aux altérations causées par le stress oxydant sur la biodisponibilité du NO et la fonction endothéliale (Walter J. Paulus and Tschöpe 2013; Lopaschuk, Folmes, and Stanley 2007; Fernández-Sánchez et al. 2011).

En outre, comme l'obésité s'accompagne souvent d'autres comorbidités telles que le DT2 et l'HTA, il est difficile d'évaluer les effets de l'obésité seule sur l'ICFep. De plus, de nombreuses études ont attiré l'attention sur le paradoxe en forme de « U » entre l'obésité et l'IC. Ce paradoxe fait référence à un profil de risque plus faible chez les patients en surpoids marginal que chez les personnes ayant un poids normal ou maigre. L'existence de ce paradoxe en « U » serait probablement liée au niveau d'adiponectines ou de lipoprotéines (Tadic and Cuspidi 2019; Kistorp et al. 2005).

iv. Fibrillation atriale (FA)

La fibrillation atriale est une arythmie caractérisée par une désynchronisation des oreillettes. L'oreillette gauche sert de barrière entre le VG et la circulation pulmonaire. Elle facilite le remplissage du ventricule gauche et protège la vascularisation pulmonaire des grandes oscillations de pression du VG en coordination avec l'appareil valvulaire mitral. Dans un cœur sain, le début de la diastole représente environ 80 % du remplissage du VG, tandis que la contraction de l'oreillette représente les 20 % restants. À un stade précoce d'ICFep, le remplissage pourrait dépendre davantage de la contraction de l'oreillette gauche (Phan, Abozguia, Shivu, et al. 2009). Ensuite à un stade avancé de la pathologie, on observe une dilatation progressive de l'oreillette et une diminution de la réserve contractile de l'oreillette. Ce phénomène est en particulier lié à une augmentation des pressions de remplissage et un remodelage (Santos et al. 2016).

D'après Zakeri et collaborateurs, en présence d'une FA, la tolérance à l'effort est réduite et le risque de mortalité est plus élevé chez ces patients (Zakeri et al. 2014). **Il est relativement admis que l'ICFep et la FA sont étroitement liées et se prédisposent l'une à l'autre** (*figure 19*). Il est notamment observé

une augmentation du risque d'événements cardiovasculaires graves en cas de FA (Santhanakrishnan et al. 2016; Chamberlain et al. 2017; O'Neal et al. 2017).

De nombreux changements sont provoqués par la FA et peuvent contribuer au développement de l'ICFEP, notamment des altérations de l'hémodynamique, une inflammation régionale et systémique, une fibrose myocardique (Shantsila et al. 2013), une altération du cycle calcique (Yeh et al. 2008), une activation neurohormonale (Nair et al. 2014) et un état prothrombotique que nous aborderons plus en détail plus tard dans cette partie introductive (figure 19).

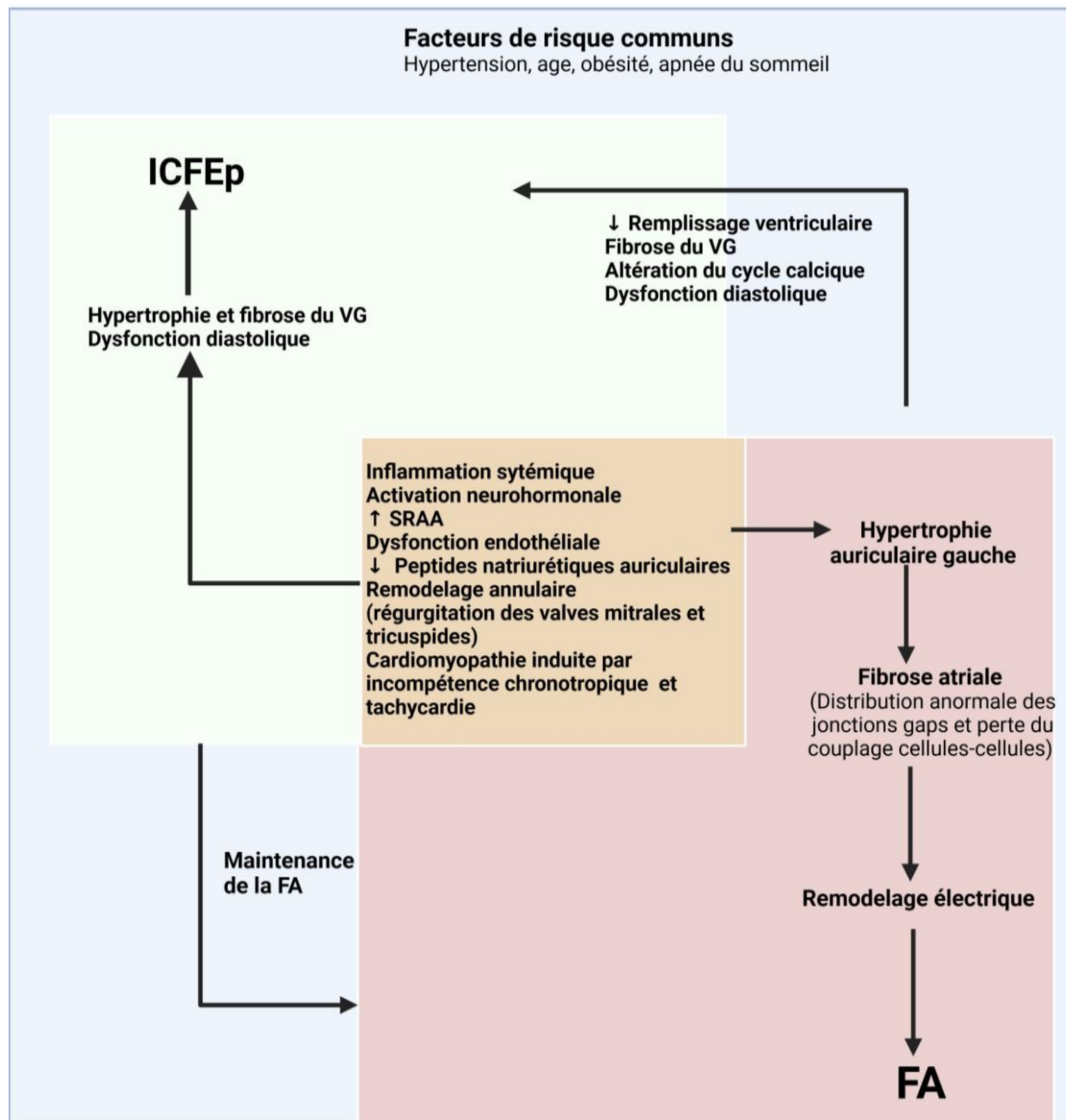


Figure 19 : Physiopathologie entre FA et ICFEP

Adapté de Kotecha et al. 2016

VG : ventricule gauche ; SRAA : système rénine-angiotensine-aldostérone.

v. Insuffisance rénale chronique

On définit l'insuffisance rénale chronique par un débit de filtration glomérulaire (DFG) estimé inférieur à 60 mL/min/1.73 m² associé à une hypertension, une protéinurie, et une perte de masse des néphrons (Noone and Licht 2014). Le « **syndrome cardio-rénal** » définit la coexistence d'une IC et d'une insuffisance rénale chronique, il est lié à une forte mortalité (Streng et al. 2018). À cause de sa physiopathologie, l'insuffisance rénale en tant que telle présente un facteur de risque et de mortalité de l'ICFEp (Tonelli et al. 2006). Bien que l'obésité, le DT2 et l'HTA soient des facteurs de risques communs aux deux conditions (IC et insuffisance rénale chronique), **il est suggéré que l'IC est capable d'altérer directement la fonction rénale et que l'insuffisance rénale chronique peut altérer la fonction cardiaque**. Ainsi, la coexistence des deux pathologies, l'interdépendance du cœur et des reins ainsi que la similarité de leurs réseaux microvasculaires suggèrent que la dysfonction microvasculaire pourrait jouer un rôle dans l'apparition et la progression des deux pathologies. De ce fait, il est difficile de dire si l'insuffisance rénale est une cause de l'ICFEp ou un facteur de risque à son établissement.

En tant que facteur de risque de l'ICFEp, l'insuffisance rénale chronique est capable d'induire une HTA par l'intermédiaire de l'absorption chronique de sodium (*figure 20*). Cette surcharge hydrosodée favorise le remodelage cardiaque et l'émergence d'un dysfonctionnement diastolique par le biais d'élévations de la postcharge et de la précharge (Judd and Calhoun 2015). Ces taux importants de sodium indépendamment de l'HTA induisent la survenue d'un état pro-inflammatoire systémique, préjudiciable à la microvascularisation coronarienne (Yilmaz et al. 2012). Nangaku et collaborateurs suggèrent qu'un défaut d'approvisionnement sanguin des capillaires péri-tubulaires et un déséquilibre des niveaux de substance vasoactive peuvent provoquer une hypoxie rénale locale capable d'activer le SRAA. Ces phénomènes vont avoir pour conséquence d'entraîner la survenue d'une surcharge volumique et un remodelage cardiaque (Nangaku and Fujita 2008). Enfin, en plus d'exacerber l'inflammation systémique et la dysfonction endothéliale, l'insuffisance rénale favorise également l'ICFEp par l'intermédiaire d'une altération des niveaux en médiateurs rénaux (diminution de vitamine D active, hyperphosphatémie, augmentation du fibroblast growth factor-23 [FGF-23] et de toxines urémiques) (van de Wouw et al. 2019).

Pour résumer, des changements vasculaires, les déficiences en facteurs rénaux et les altérations de la filtration rénale, peuvent provoquer et/ou contribuer au développement de l'ICFEp par le biais de plusieurs processus (*figure 20*).

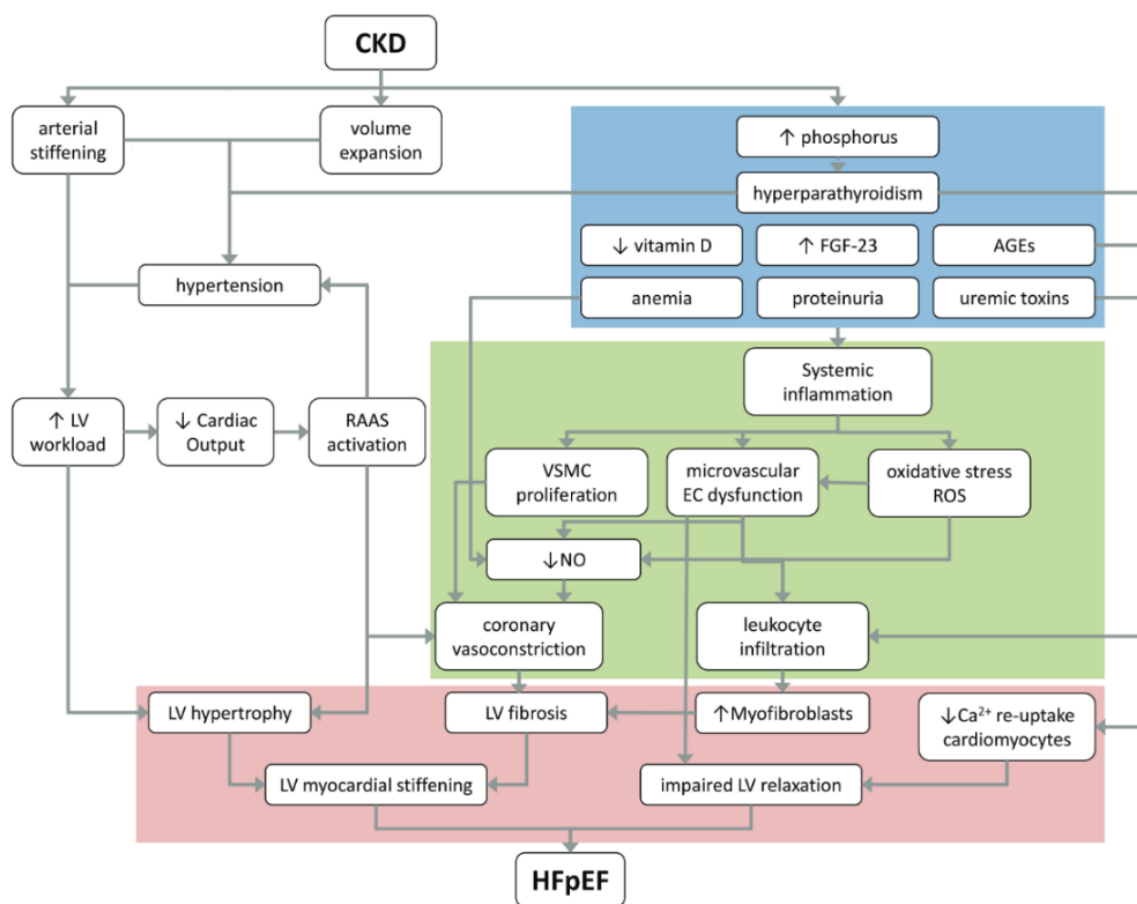


Figure 20 Mécanismes pathologiques qui sous-tendent la progression de l'insuffisance rénale chronique vers l'ICFep

Adapté de van de Wouw et al. 2019. L'encadré bleu = facteurs rénaux, l'encadré vert = facteurs microvasculaires coronariens ; encadré rouge = changements myocardiques contribuant à l'ICFep. AGEs, produits de glycation avancés ; CKD, chronic kidney disease ; EC, endothelial cell ; FGF-23, fibroblast growth factor 23 ; HFpEF, heart failure with preserved ejection fraction ; LV, left ventricle ; NO, nitric oxide ; RAAS, renin-angiotensin-aldosterone system ; ROS, reactive oxygen species ; VSMC, vascular smooth muscle cells.

Des taux élevés en phosphate (ter Maaten et al. 2016), en FGF-23 (S. Tanaka et al. 2016), en toxines urémiques (Lili Zhang et al. 2017), une protéinurie (Nayor et al. 2017) et une déficience en vitamine D (Nolte et al. 2019), peuvent induire un état pro-inflammatoire systémique (van de Wouw et al. 2019). Cet état inflammatoire entraîne ensuite une dysfonction endothéliale, un stress oxydant et une prolifération des CML vasculaires induisant une perte de compliance du VG et une dysfonction microvasculaire coronarienne. L'expansion volumique, l'HTA (surcharge hydrosodée) et l'activation du SRAA vont participer à l'augmentation de la charge de travail et l'hypertrophie du VG (figure 20).

La dysfonction cardiaque quant à elle, est susceptible d'entraîner une hypoperfusion rénale chronique ainsi que l'activation secondaire du SRAA. À terme, cela favorise le développement d'une fibrose rénale et la détérioration progressive de la filtration rénale (Goursaud and du Cheyron 2014).

Les deux pathologies sont toutes deux associées à l'inflammation, la dysfonction endothéliale et une atteinte microvasculaire et **leur association sous le terme de syndrome « cardio-rénal » aggrave le pronostic** (Unger et al. 2016).

Ce lien entre insuffisance rénale chronique et ICFEp a été étudié avec le suivi de marqueurs d'atteinte rénale dans des cohortes d'ICFEp. La Cystatine C (CysC) est décomposée par les tubules rénaux (Cruz et al. 2010). Son augmentation est un marqueur de lésions tubulaires rénales, elle est proposée comme promouvant la fibrose myocardique et l'hypertrophie ventriculaire (Huerta et al. 2016). Cette augmentation a été associée à la prédiction de nouveaux cas d'ICFEp dans la cohorte PREVEND (Prevention of Renal and Vascular End-stage Disease) (Brouwers et al. 2013) et au pronostic (Burns et al. 2022; Chirinos et al. 2020).

vi. Le vieillissement

Le vieillissement est un facteur de risque plus fortement associé à l'ICFEp qu'à l'ICFEr (Mogensen et al. 2011; Tribouilloy et al. 2008) (figure 21).

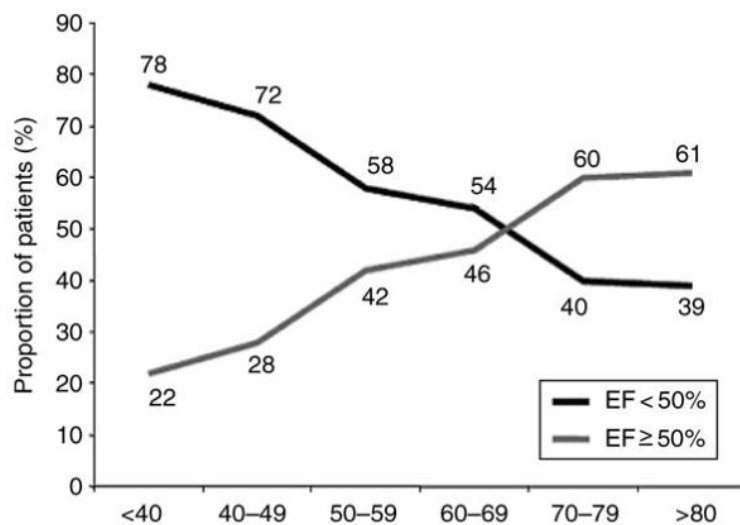


Figure 21 : Proportion de patients atteints d'ICFEp et ICFEr rapporté à l'âge
Adapté de Tribouilloy et al. 2008

Il est bien établi que le vieillissement cardiovasculaire affecte plusieurs composantes de l'ICFEp. Il induit notamment une rigidité diastolique même en présence d'une pression artérielle contrôlée et en l'absence d'augmentation de la masse du VG (Arbab-Zadeh et al. 2004; Fujimoto et al. 2012). Le vieillissement atténue la capacité à augmenter la fréquence cardiaque, la fonction systolique et le débit cardiaque en réponse à l'exercice, il est responsable d'une altération de la fonction diastolique (Popović et al. 2006; Carrick-Ranson et al. 2012; Fleg et al. 1995; Swinne et al. 1992).

En outre, la sénescence est liée à une diminution du renouvellement des cardiomyocytes, une altération de la vasodilatation dépendante de l'endothélium, une diminution de la biodisponibilité du NO, une augmentation de l'inflammation systémique, et à un remodelage fibrotique cardiaque pouvant favoriser l'apparition de l'ICFEp (DeSouza et al. 2000; Bergmann et al. 2009; Pagan et al. 2022; Biernacka and Frangianni 2011).

Bien que l'âge soit un facteur pronostic de nombreuses autres maladies (figure 22) (Pocock et al. 2013), ses effets sur le système cardiovasculaire augmentent le risque d'ICFEp (Divo, Martinez, and Mannino 2014). Dans une cohorte de patients atteints d'ICFEp, l'IGFBP7 (Insulin-like Growth Factor-binding Protein 7) associé à la sénescence cellulaire et au vieillissement était élevé. Cette augmentation était associée à celle des marqueurs de la dysfonction diastolique ainsi qu'à la sévérité de l'IC et au pronostic des patients. Il est proposé que la contribution d'IGFBP-7 soit liée à l'inflammation et au stress oxydant (Hage et al. 2018; Januzzi et al. 2018).

Le vieillissement à lui seul ne provoque pas d'IC dans la majorité des modèles animaux. Cependant les modèles de sénescence et les patients atteints d'ICFEp présentent certaines caractéristiques communes, dont l'hypertrophie cardiaque, la dysfonction diastolique et l'intolérance à l'exercice (Kobak, Zarzycka, and Chiao 2022).

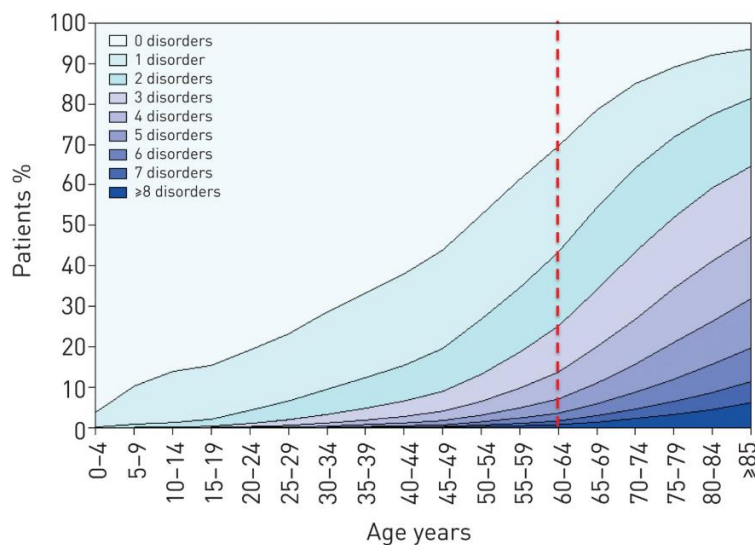


Figure 22 : Nombre de comorbidités chroniques par tranche d'âge
Adapté de Divo, Martinez, and Mannino 2014

vii. Sexe féminin

En vieillissant, les femmes sont plus susceptibles que les hommes de développer des changements structuraux typiques de l'ICFep tels qu'une hypertrophie concentrique du VG et un remodelage auriculaire gauche (Koster et al. 2010; A. M. Shah 2013). On estime que les femmes sont plus touchées par l'HTA que les hommes, ce qui leur confère un risque accru d'IC (D. Levy et al. 1996; Koster et al. 2010). Chez les femmes, le vieillissement et l'HTA systolique contribuent à un remodelage concentrique du VG (Hayward and Kelly 1997; Krumholz, Larson, and Levy 1993) pouvant les rendre plus vulnérables aux modifications des réserves systoliques, diastoliques ou chronotropes, qui se sont toutes avérées cruciales dans le développement de l'ICFep (Grandi et al. 1992; Borlaug et al. 2010; Scantlebury and Borlaug 2011).

Il a été démontré par Föll et collaborateurs que les jeunes femmes (20 à 40 ans) ont une fonction diastolique améliorée. Cependant, avec le vieillissement (> 60 ans), leur fonction diastolique semble être plus affectée que celle des hommes (Föll et al. 2010) (figure 23). Chez les patients atteints d'ICFep les parois aortiques et ventriculaires gauches sont plus rigides. L'incidence de ces deux mécanismes est plus élevée chez les femmes que chez les hommes et augmente avec l'âge des femmes et va avoir pour conséquence d'affecter la relaxation du ventricule en diastole (Shim et al. 2011).

Les femmes sont également plus susceptibles que les hommes de présenter une fonction endothéliale et une dilatation médiée par le flux brachial altéré, toutes deux observées dans l'ICFep (Borlaug et al. 2006; Hamburg et al. 2011; Haykowsky et al. 2013).

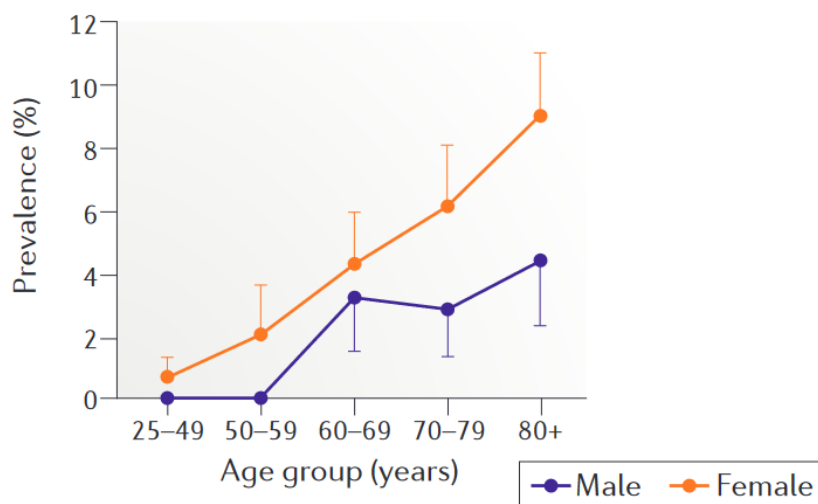


Figure 23 : Prévalence de l'ICFep selon l'âge et le sexe

Adapté de Dunlay, Roger, and Redfield 2017. La prévalence de l'ICFep est augmentée avec l'âge dans les deux sexes, cependant pour chacune des tranches d'âge elle est supérieure chez les femmes.

De Simone et collaborateurs ont mis en évidence une théorie selon laquelle l'excès d'adiposité centrale affecterait la géométrie ventriculaire gauche (De Simone et al. 2011), augmenterait le risque cardiovasculaire (Manrique-Acevedo et al. 2020) et aggraverait considérablement la fonction diastolique chez les femmes (Russo et al. 2010). Ces observations seraient accentuées par rapport aux hommes et pourraient en partie expliquer la plus grande prévalence des femmes dans l'ICFep.

En conclusion, nous pouvons dire que le syndrome clinique de l'ICFep se développe à partir d'une interaction complexe avec de nombreux facteurs de risques pouvant causer atteinte cardiaque et une dysfonction diastolique responsable des symptômes cliniques (figure 24). Une meilleure compréhension de l'étiologie et une stratification des patients représente un des défis majeurs à venir et pourrait permettre de trouver de nouveaux axes thérapeutiques pour ces patients.

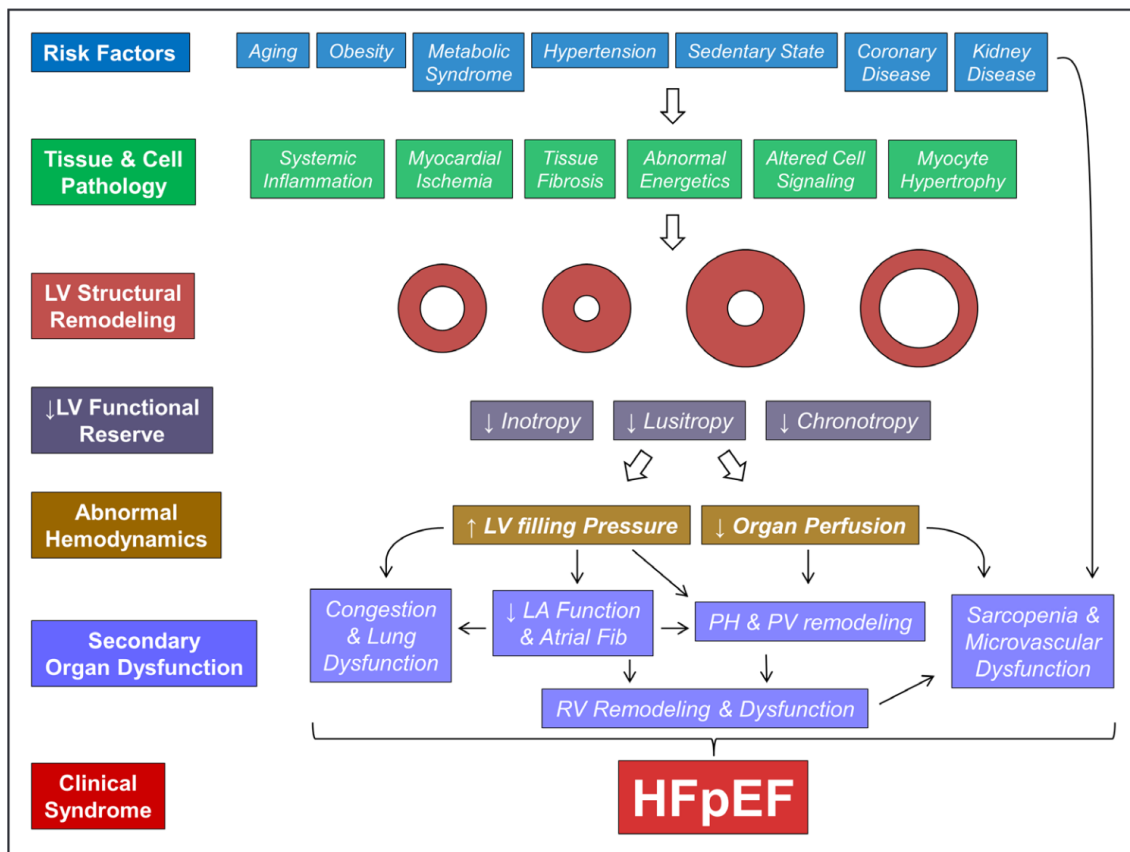


Figure 24 : Lien entre facteurs de risques et ICFep

Adapté de Pfeffer, Shah, and Borlaug 2019

Par des mécanismes cellulaires qui ne sont pas encore complètement compris, les facteurs de risque modifient la fonction des cellules et des tissus, altérant la réserve diastolique et systolique du cœur, ce qui entraîne une hémodynamique anormale et un dysfonctionnement secondaire des organes. Ce type d'insuffisance cardiaque est observé avec différents types de remodelages cardiaques. LA : l'oreillette gauche ; PH, hypertension pulmonaire ; PV, vasculaire pulmonaire ; et RV, ventriculaire droit.

Le terme ICFEp est souvent utilisé pour décrire une population de patients hétérogène dans sa présentation et sa physiopathologie, et pour qui contrairement à l'ICFEr, une thérapie avec un traitement global de tous les patients est inefficace. Une meilleure stratification des patients pourrait permettre à terme une individualisation des thérapies et améliorer la qualité de vie de ces patients. Bien que le besoin clinique d'un meilleur phénotypage et une meilleure stratification de ces patients soit reconnu, il n'existe aucun consensus sur la façon de classer les patients en phénogroupes

c. Stratification par phénogroupes

En fonction des études, les critères utilisés pour classification/stratification des patients diffèrent et comprennent notamment les comorbidités (cardiovasculaires et non cardiovasculaires), les paramètres imagerie, l'hémodynamique, les biomarqueurs et les données d'omiques.

En fonction des critères utilisés, on dénombre majoritairement entre 2 à 6 phénogroupes de patients atteints d'ICFEp. Il est difficile de faire une synthèse en regroupant les différents phénogroupes observés, car en fonction des études, il existe des divergences concernant la population étudiée (âge moyen, sexe) et les critères principaux utilisés pour le phénotypage. Cependant, d'après Peters et collaborateurs, il serait possible de réaliser un recoupement des études permettant de classer les patients en trois phénogroupes (Peters et al. 2022).

i. Phenotype « Vieillesse vasculaire »

Le premier phénogroupe est appelé « **vieillesse vasculaire** » et représente 30% à 50% des patients atteints d'ICFEp (*figure 25*). Ces patients sont souvent sujets à une rigidité et à une fibrillation auriculaire gauche, une raideur artérielle, une HTA élevée, à une insuffisance rénale chronique (S. J. Shah et al. 2015; J. B. Cohen et al. 2020; Hedman et al. 2020; Tromp et al. 2019). En outre, les patients de ce phénogroupe ont une hypertrophie cardiaque prononcée, un remodelage concentrique et un volume télédiastolique inférieur. L'inflammation systémique (TNF α , galectine-3), innée (IL-8, pentraxine-3, sICAM-1) et une perturbation du métabolisme minéral et de la calcification tissulaire (ostéoprotégérine) participent activement à la physiopathologie (J. B. Cohen et al. 2020; Peters et al. 2022).

Ce phénogroupe peut être subdivisé en deux sous-groupes de patients :

– un premier sous-groupe caractérisé par une élévation de la pression pulmonaire artérielle systolique, une dysfonction du ventricule droit (VD), une myopathie/défaillance auriculaire gauche, et une insuffisance rénale chronique. Ces facteurs participent au développement des symptômes congestifs et aggravent l'IC et le taux de mortalité (Peters et al. 2022).

– un second sous-groupe présentant des caractéristiques « similaires à l'ICFEp » avec une altération de la compliance, une contractilité altérée, une dysfonction du VD, et des niveaux élevés de peptides natriurétiques (Jones et al. 2021; V. S. Hahn et al. 2021).

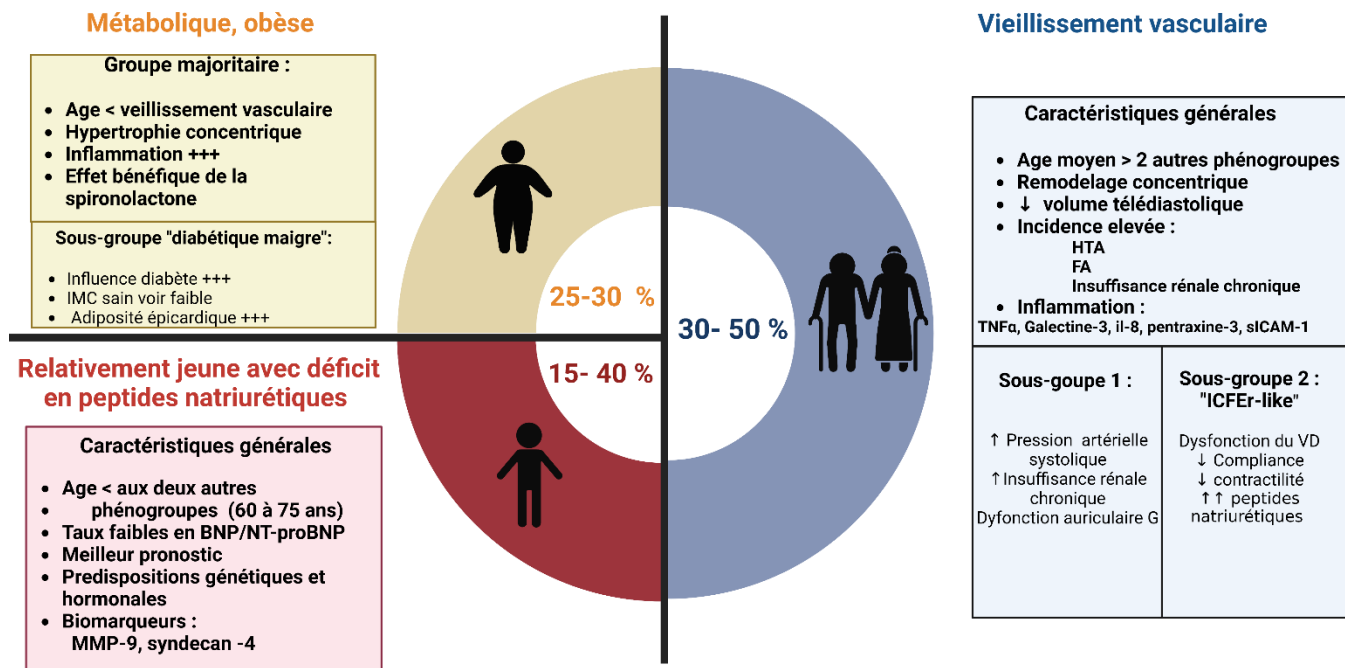


Figure 25 : Possible classification en 3 grands phénotypes des patients atteints d'ICFEp Réalisé à partir des publications de Peters et al. 2022; J. B. Cohen et al. 2020

ii. Phénotype « métabolique, obèse »

Le second phénotype est appelé « **métabolique, obèse** » par Peters et collaborateurs et représente environ 25 à 30 % des patients (S. J. Shah et al. 2015; J. B. Cohen et al. 2020; Sabbah et al. 2020; Peters et al. 2022) (figure 25). Comme nous l'avons vu précédemment dans la partie facteurs de risque ; l'obésité et l'excès de tissu adipeux viscéral et épigardique sont délétères pour le développement et l'évolution de l'ICFEp (J. R. Kapoor and Heidenreich 2010; Obokata et al. 2017). Contrairement au phénotype de « vieillissement vasculaire », ces patients sont souvent plus jeunes et répondent favorablement à un traitement à la spironolactone (J. B. Cohen et al. 2020; I. S. Anand et al. 2017). Il est émis l'hypothèse que la physiopathologie de l'ICFEp est influencée par le contexte inflammatoire et métabolique des comorbidités (principalement l'obésité et le DT2) ; par rapport aux deux autres grands phénotypes, celui-ci semble être principalement défini par l'inflammation (cytokines et voies de signalisation) et une augmentation des marqueurs d'insuffisance rénale, d'angiogenèse et de fibrose (J. B. Cohen et al. 2020; Hedman et al. 2020; Sabbah et al. 2020). Ces patients présentent de faibles taux en peptides natriurétiques en raison d'une production réduite et à une clairance accrue (T. J. Wang et al. 2004; Neeland, Winders, et al. 2013). Très récemment, il a été

mis en évidence le potentiel bénéfique d'un traitement avec un analogue du GLP-1 (Semaglutide) sur la qualité de vie et la tolérance à l'effort de ce phénotype de patients (Kosiborod et al. 2023; Borlaug et al. 2023).

Ce phénotype possède un sous-groupe de patients avec un phénotype « **diabétique maigre** ». Dans ce sous-groupe, l'ICFEp est plus fortement influencée par le diabète et les variables cardiométaboliques-inflammatoires plutôt que l'obésité. Malgré un indice de masse corporelle normal ou faible, ces patients ont un excès d'adiposité viscérale et épicaudique similaire à celle observée chez les patients « **métaboliques-obèses** » (Tromp et al. 2018).

iii. Phénotype « Relativement jeune avec un déficit en peptides natriurétiques »

Enfin le troisième phénotype est constitué de patients « **Relativement jeune avec un déficit en peptides natriurétiques** » et représente 15 à 40 % des patients ICFEp (S. J. Shah et al. 2015; J. B. Cohen et al. 2020; Gu et al. 2021) (*figure 25*). Ces patients sont relativement plus jeunes (60 à 75 ans), ont des taux de peptides natriurétiques plus faibles et sont moins susceptibles de connaître un pronostic plus négatif que les patients « métaboliquement obèses » ou avec « vieillissement vasculaire ». Il est suggéré que des modifications des gènes des peptides natriurétiques, l'ascendance génétique liée à l'ethnie, les niveaux d'androgènes spécifiques au sexe, l'hormonothérapie et la résistance à l'insuline peuvent avoir un impact sur les faibles niveaux de BNP/NT-proBNP (Peters et al. 2022). Chez ces patients, des niveaux élevés en MMP-9, syndecan-4 sont observés (J. B. Cohen et al. 2020; Hedman et al. 2020).

d. Conclusion

Cette stratégie de stratification de l'ICFEp en trois phénotypes peut à l'avenir être un outil précieux permettant de classer les patients à risque et prédire le résultat d'un traitement. Cependant, cette dernière nécessite des recherches et des études cliniques supplémentaires permettant de conforter l'existence de ces 3 phénotypes. Dans le cadre de ce projet de thèse, nous allons étudier principalement les caractéristiques du phénotype « métabolique, obèse » à l'aide de modèles murins génétiquement modifiés et physiopathologiques afin d'identifier de nouveaux mécanismes participants au développement de l'ICFEp.

4. Diagnostic de l'ICFEp

a. Algorithme HFA-PEFF

Le diagnostic de l'ICFEp est considérablement plus difficile que celui de l'ICFEr. En effet, pour un patient ayant une dyspnée, une FEVG normale, et aucun signe surcharge de fluide, **il est nécessaire d'exclure toute anomalie cardiovasculaire avant d'établir le diagnostic de l'ICFEp.**

Ainsi, en 2019, suite à un consensus de l'association d'insuffisance cardiaque de la société Européenne de cardiologie, Pieske et collaborateurs ont établi un algorithme d'exclusion HFA-PEFF permettant le diagnostic en 4 étapes de l'ICFEp à partir de nombreux critères cliniques, biologiques et d'imageries (Pieske et al. 2019) (figure 26).

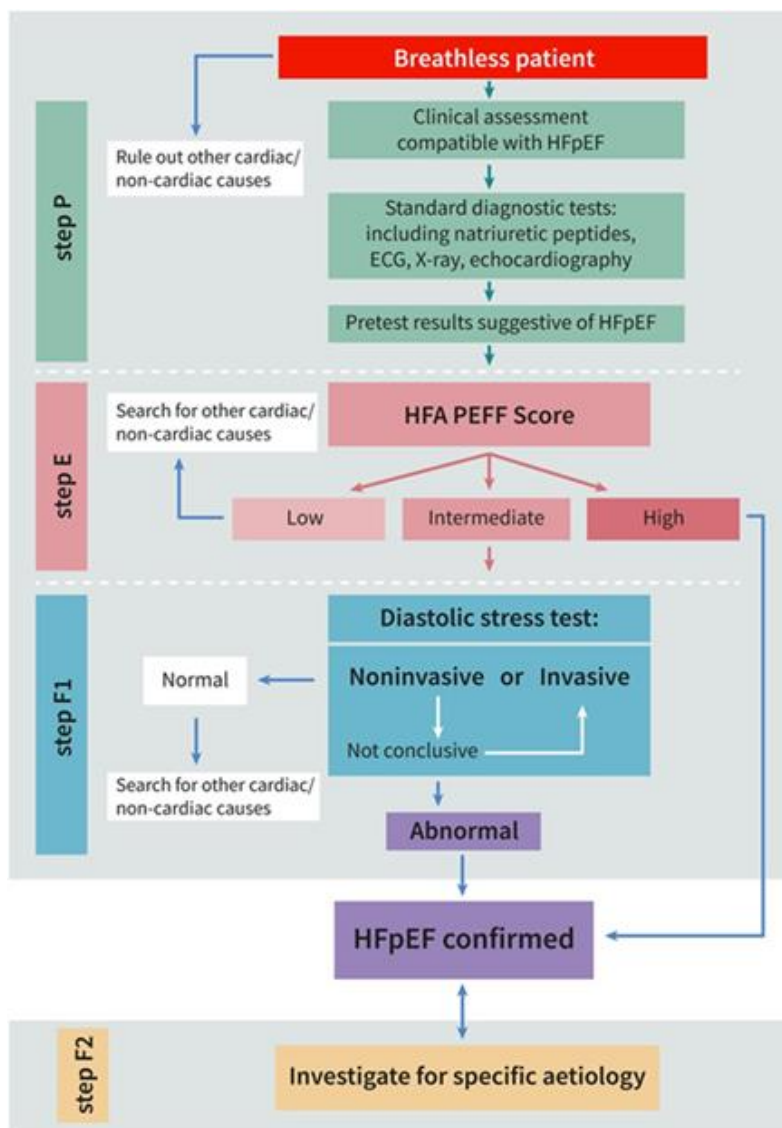


Figure 26 : Algorithme HFA-PEFF
Pieske et al. 2019

i. Etape de pré-test

La première étape de **pré-test ou étape P** (figure 26) est réalisée pour tout patient ayant des signes d'IC et consiste à faire un bilan initial. L'objectif de cette étape est de confirmer le diagnostic de l'IC, d'identifier une ICFEp et d'exclure l'ICFEr ou une maladie valvulaire. Afin d'affirmer le diagnostic de l'ICFep, de nombreux tests cliniques sont réalisés lors de cette étape : ECG, examen sanguin avec analyse des peptides natriurétiques, échocardiographie standard et éventuellement d'un test d'effort.

ii. Etape E

La seconde étape ou **étape E** consiste en un bilan diagnostique permettant l'évaluation du score d'échocardiographie et des peptides natriurétiques précis, si non réalisés à l'étape de pré-test (tableau 4). Les critères d'établissement du score sont classés en deux catégories en fonction des valeurs obtenues : mineurs (1 point) et majeurs (2 points). Les critères pris en compte sont d'ordre fonctionnel (onde septal e', ratio E/e', Tricuspid regurgitation peak velocity, pulmonary arterial systolic pressure), morphologique (index de volume de l'oreillette gauche, la masse du VG, l'épaisseur de la paroi) et biologique (valeurs de BNP et NT-proBNP)

Le total de points obtenu permet de confirmer ou non le diagnostic de l'ICFep supposé à l'étape de pré-test :

- si le score est supérieur ou égal à cinq points, le diagnostic de l'ICFep est confirmé.
- si le score est inférieur ou égal à un point, le diagnostic de l'ICFep est remis en cause.
- si un score intermédiaire est obtenu et donc entre deux et quatre points, alors le diagnostic de l'ICFep est envisagé. Cependant, le patient doit subir d'autres analyses complémentaires à l'étape F1.

	Functional	Morphological	Biomarker (SR)	Biomarker (AF)
Major	septal e' < 7 cm/s or lateral e' < 10 cm/s or Average E/e' ≥ 15 or TR velocity > 2.8 m/s (PASP > 35 mmHg)	LAVI > 34 ml/m ² or LVMI ≥ 149/122 g/m ² (m/w) and RWT > 0,42 #	NT-proBNP > 220 pg/ml or BNP > 80 pg/ml	NT-proBNP > 660 pg/ml or BNP > 240 pg/ml
Minor	Average E/e' 9 -14 or GLS < 16 %	LAVI 29-34 ml/m ² or LVMI > 115/95 g/m ² (m/w) or RWT > 0,42 or LV wall thickness ≥ 12 mm	NT-proBNP 125-220 pg/ml or BNP 35-80 pg/ml	NT-proBNP 365-660 pg/ml or BNP 105-240 pg/ml
Major Criteria: 2 points		≥ 5 points: HFpEF		
Minor Criteria: 1 point		2-4 points: Diastolic Stress Test or Invasive Haemodynamic Measurements		

Tableau 4 : Critères mineurs et majeurs du score établi lors de l'étape E de l'algorithme HFA-PEFF Adapté de Pieske et al. 2019

iii. Etape F1

La troisième étape ou F1 est donc nécessaire pour les patients dont le diagnostic est incertain à l'étape E (*figure 26*). Il s'agit d'une phase de tests fonctionnels, avec échographie de stress et mesures hémodynamiques invasives.

iv. Etape F2

La dernière étape ou étape F2 correspond à la recherche de l'étiologie associée à l'ICFep (*figure 26*). L'identification de l'étiologie permet une meilleure classification des patients, elle permet d'adapter la stratégie thérapeutique. Parmi les potentielles étiologies sous-jacentes à l'ICFep, on peut trouver des « *anomalies du myocarde* » d'origine ischémiques, métaboliques et inflammatoires, génétiques ou plus rarement d'origine toxique. Des « *anomalies des conditions de charge* » telles qu'une valvulopathie, une péricardite, une hypertension et des troubles du rythme peuvent également être sous-jacents. L'évaluation et l'identification de ces potentielles étiologies incluent des tests de stress à l'effort, mais également des analyses par IRM, par biopsies et par tests génétiques.

Plus récemment, des études ont mis en évidence une corrélation positive entre un score élevé à l'algorithme HFA-PEFF, l'incidence des événements cardiovasculaires et l'évolution clinique (Egashira et al. 2022; Sotomi et al. 2021).

b. Diagnostic clinique

Cette étape est réalisée la plupart du temps en amont de l'étape dite de prétest ou P, puisque les signes et les symptômes cliniques de l'ICFep sont similaires à ceux de l'ICFER et ne permettent pas de discriminer l'une ou l'autre des pathologies. Classiquement, les patients souffrent d'un ou plusieurs des symptômes suivants : dyspnée d'effort, intolérance à l'exercice, d'orthopnée, dyspnée nocturne paroxystique, surcharge pulmonaire, dilatation veineuse avec turgescence jugulaire, œdèmes périphériques, arythmie visible à l'électrocardiogramme (FA).

c. Diagnostic biologique

i. Bilan sanguin

Durant l'étape de pré-test un bilan sanguin global est réalisé, comprenant un ionogramme (natrémie, kaliémie), un bilan rénal (urémie, créatininémie, calcul du débit de filtration glomérulaire,

un bilan hépatique (transaminases, créatine kinase), un hémogramme (numération formule sanguine, plaquettes) ainsi qu'une glycémie afin d'évaluer le fonctionnement des autres organes et d'évaluer la présence d'autres facteurs de risques et comorbidités sous-jacentes.

ii. Dosage des peptides natriurétiques circulants

Le principal dosage biologique (Réalisé à l'étape P ou E) utilisé pour confirmer la présence d'un IC est la mesure de la concentration sanguine en peptides natriurétiques. Les peptides natriurétiques les plus fréquemment dosés sont le BNP et le NT-proBNP (N-terminal proBrain Natriuretic Peptide). Les myocytes ventriculaires produisent ces peptides natriurétiques en réaction à toute atteinte du système cardiovasculaire, y compris l'augmentation de tension de la paroi du myocarde en réponse à une augmentation de la pression. À travers leurs propriétés diurétiques, vasodilatatrices et anti-hypertrophiques, ces peptides jouent un rôle important dans la physiopathologie de l'IC en réduisant les effets négatifs du SRAA et de l'activation du système nerveux sympathique (Morfino et al. 2022).

La probabilité de détecter une IC est faible si les concentrations plasmatiques en BNP ou en NT-proBNP sont inférieures à 35 pg/mL ou 125 pg/mL, respectivement. En revanche, il est très probable qu'un diagnostic d'IC soit posé chez un patient en rythme sinusal si les taux de BNP ou de NT-proBNP sont supérieurs à 80 pg/mL ou 220 pg/mL, respectivement. Cependant, un taux de BNP normal n'exclut pas l'ICFEp, et l'interprétation doit toujours tenir compte des données cliniques et être étayée par des tests complémentaires (Ponikowski et al. 2016).

En effet, les niveaux de peptides natriurétiques sont souvent plus faibles dans l'ICFEp que dans l'ICFEr (Iwanaga et al. 2006) mais il a été récemment démontré qu'ils peuvent être utiles dans le diagnostic de la dysfonction diastolique (Remmelzwaal et al. 2020). Une certaine proportion de patients a des taux de BNP circulants normaux, bien que des taux élevés de BNP aient souvent été associés comme valeur pronostique dans l'ICFEp (I. S. Anand et al. 2017; Januzzi et al. 2022 ; Anjan et al. 2012). Les principales mises en garde concernant leur interprétation portent notamment sur le fait que les taux de BNP chez les personnes souffrant d'obésité morbide sont très souvent nettement inférieurs ou normaux (*cf. partie facteurs de risque : obésité*), ainsi que sur le fait que les taux de BNP peuvent augmenter avec l'âge, l'AF, l'insuffisance rénale, la tension ventriculaire droite due à l'hypertension artérielle pulmonaire primaire, ou même à des embolies pulmonaires (Reddy and Borlaug 2016; Neeland, Winders, et al. 2013).

5. Traitements de l'ICFEp

Contrairement à l'ICFEr, les stratégies thérapeutiques de l'ICFEp ne sont pas encore bien définies. La principale stratégie actuelle repose sur la prise d'inhibiteurs du SGLT2 ainsi que le management des facteurs de risques prédisposant à la pathologie (HTA, DT2, obésité, FA et insuffisance rénale) par l'intermédiaire de mesures hygiéno-diététiques ou médicamenteuses afin d'améliorer la qualité de vie et les symptômes.

a. Éducation des patients

La **prise en charge des patients avec une ICFEp nécessite une approche multidisciplinaire** et particulièrement une bonne éducation du patient au travers la mise en place de mesures hygiéno-diététiques, de réhabilitations cardiaques et d'éducation thérapeutique. Les patients sont encouragés à pratiquer une activité physique régulièrement et à suivre des mesures diététiques permettant la perte de poids. L'ensemble de ces mesures permet d'améliorer la qualité de vie des patients, la tolérance à l'effort et de réduire les hospitalisations et la survie à 2 ans (Long et al. 2019; Buckley et al. 2021; Adachi et al. 2022).

b. Management des comorbidités

La prise en charge des patients souffrant d'ICFEp repose sur un management thérapeutique des comorbidités sous-jacentes et la prise de diurétiques en cas de surcharge volumique et de symptômes congestifs. La prise en charge des comorbidités doit permettre de diminuer la pression artérielle en cas d'HTA, la glycémie en cas de DT2, les troubles du rythme et risque thrombotiques en cas de FA et diminuer la progression d'une insuffisance rénale chronique (McDonagh et al. 2021; Jasinska-Piadlo and Campbell 2023; Behnouch et al. 2022).

c. Essais thérapeutiques

De nombreuses stratégies thérapeutiques résumées dans le tableau ci-dessous ([tableau 5](#)) ont échoué, elles visaient l'amélioration significative de la mortalité et la qualité de vie des patients atteints d'ICFEp. Ces dernières sont les β -bloquants, les inhibiteurs du courant pacemaker, les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine, les antagonistes du récepteur AT1 à l'angiotensine II, les inhibiteurs de la néprilysine, les antagonistes du récepteur minéralocorticoïde ainsi que les dérivés nitrés.

Tableau 5 : Essais cliniques dans l'ICFEP
Adapté de Henning 2020

Classe thérapeutique	Mécanisme	Molécule	Étude/Réf	Effets bénéfiques
B-bloquants	↘ fréquence cardiaque ↗ temps de remplissage en diastole	Carvedilol	SWEDIC (Bergström et al. 2004)	↘ E/A
			J-DHF (Kazuhiro Yamamoto et al. 2013)	↘ Hospitalisation ↘ Mortalité
			COHERE (Massie et al. 2007)	↘ Hospitalisation
		Bisoprolol ou Carvedilol	CIBIS-ELD (Edelmann et al. 2016)	Aucun
		Nebivolol	ELANDD (Conraads et al. 2012)	↘ Morbi-mortalité
		Bisoprolol ou Carvedilol ou Metoprolol ou Labetalol ou Atenolol	(El-Refai et al. 2013)	↘ Hospitalisation ↘ Mortalité
		NC	OPTIMIZE-HF (Hernandez et al. 2009)	Aucun
Inhibiteur sélectif et spécifique du courant pacemaker au niveau du nœud sinusal	↘ fréquence cardiaque	Ivabradine	EDIFY (Komajda et al. 2017)	Aucun
Hypolipédémiant	Inhibition de la HMG-CoA réductase	Statine	LDL cholestérol élevé (Fukuta et al. 2005)	↘ Mortalité
Inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine	↘ SRAA	Perindopril	PEP-CHF (John G. F. Cleland et al. 2006)	↘ Hospitalisation à 1 an

Antagonistes du récepteur à l'angiotensine II : AT1	↘ vasoconstriction	Candesartan	CHARM– Preserved (Yusuf et al. 2003)	↘ Hospitalisation
		Irbesartan	I-PRESERVE (Massie et al. 2008)	Aucun
Antagonistes du récepteur à l'angiotensine II : AT1 inhibiteurs de la néprilysine		Valsartan Sacubitril	PARAMOUNT (Solomon et al. 2012)	↘ NT-proBNP
			PARAGON-HF (Solomon et al. 2017)	Aucun
Antagoniste du récepteur minéralocorticoïde	↘ réabsorption de Na+	Eplerenone	RAAM-PEF (Deswal et al. 2011)	↘ E/e' ↘ Marqueurs du turnover du collagène
			Aldo-DHF (Edelmann et al. 2013)	Légère ↘ E/e'
		Spirolactone	TOPCAT (Pitt et al. 2014)	Aucun
Dérivés nitrés	↗ NO et la vasodilatation	Isosorbide	(Redfield et al. 2015)	Aucun
		Nitrite inorganique inhalé et nébulisé	INDIE-HFpEF (Borlaug et al. 2018)	Aucun
Inhibiteur de la phosphodiesterase 5	↗ cGMP	Sildenafil	RELAX (Redfield et al. 2013)	Aucun

Inhibiteurs du SGLT2

En revanche, le traitement par des inhibiteurs du SGLT2 (Sodium glucose co-transporter 2) est entré dans les recommandations de l'AHA/ACC/HFSA de 2022 (classe 2a) (Heidenreich et al. 2022) comme ayant un bénéfice dans la réduction des hospitalisations (environ 20 %) et de la mortalité cardiovasculaire liée à l'ICFep (Behnoush et al. 2022; Jasinska-Piadlo and Campbell 2023). Plus récemment, il a été suggéré que l'utilisation des inhibiteurs du SGLT2 pourrait intervenir en première ligne thérapeutique (Redfield and Borlaug 2023). En effet, **les inhibiteurs du SGLT2 ont été placés dans les nouvelles recommandations au rang de classe I, niveau A** en raison de leur effet bénéfique sur les hospitalisations et la mortalité cardiovasculaire (McDonagh et al. 2023).

Les effets bénéfiques des gliflozines (empagliflozine, dapagliflozine) chez les patients avec ICPE ont été visualisés dans les études EMPEROR-Preserved, PRESERVED-HF et DELIVER (Anker et al. 2021; Nassif et al. 2021; Solomon et al. 2022). Fonctionnellement, l'empagliflozine améliore la fonction diastolique en abaissant le volume télédiastolique du VG et améliore les rapports E/A et E/e' (N. D. Cohen et al. 2019; Sakai and Miura 2019; Soga et al. 2021). Les retombées bénéfiques de ces agents antidiabétiques seraient liées à des mécanismes moléculaires agissant à de nombreux niveaux (figure 27). Ces mécanismes comprennent notamment l'amélioration de l'utilisation de l'énergie mitochondriale, l'atténuation de l'activation de l'axe rénine-angiotensine II-aldostérone, des effets diurétiques et natriurétiques, une diminution du tonus sympathique, l'amélioration de l'homéostasie calcique mitochondriale et une réduction de l'inflammation myocardique, du stress oxydatif et de la fibrose (Hsu et al. 2023).

Hormis les gliflozines, il a été très récemment suggéré dans l'essai STEP-HFpEF, un potentiel effet bénéfique de l'analogue du GLP-1 (Semaglutide) sur la qualité de vie et la mortalité cardiovasculaire des patients obèses atteints d'ICPE (Kosiborod et al. 2023; Borlaug et al. 2023). En revanche d'autres études sont nécessaires afin de confirmer le bénéfice de ce traitement qui semble principalement lié à la perte de poids des patients et à une diminution de l'inflammation systémique.

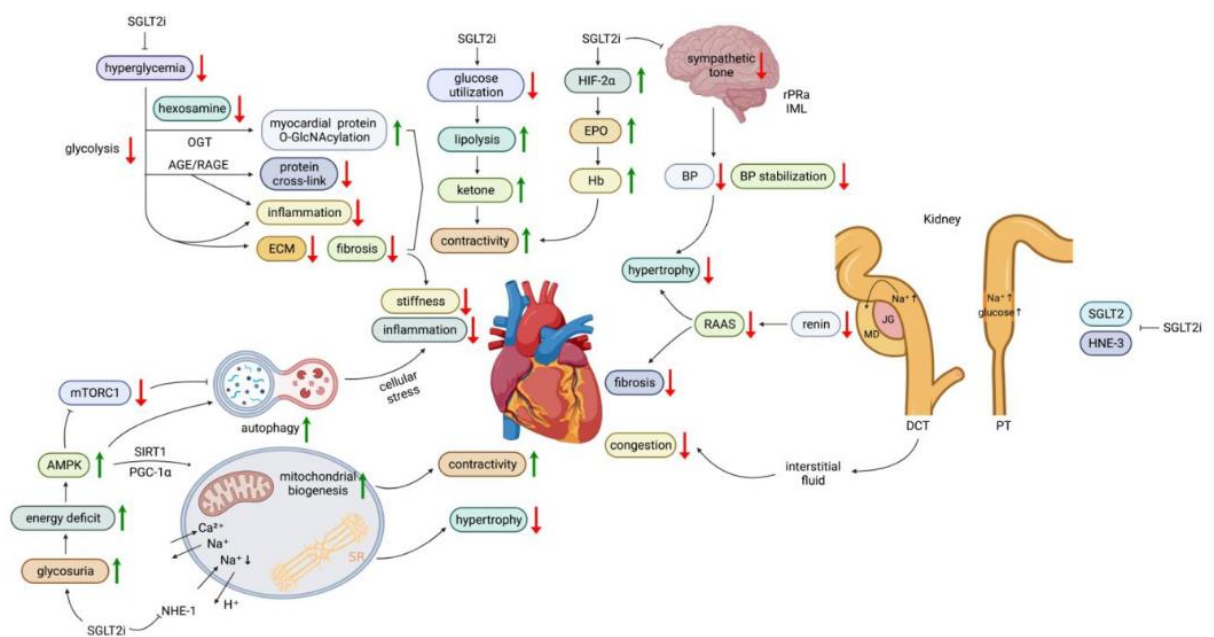


Figure 27 : Mécanisme moléculaire de l'effet des inhibiteurs de SGLT2

(Hsu et al. 2023) SGLT2i: sodium-glucose co-transporter-2 inhibitors; OGT : O-linked N-acetylglucosaminyltransferase; O-GlcNAcylation: O-linked acetylglucosaminylation; AMPK: the 5' adenosine monophosphate-activated protein kinase-activated protein kinase; PGC1α: the peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha; mTOR: the mammalian target of rapamycin; RAAS: renin-angiotensin-aldosterone; HIF2α: hypoxia-inducible factor 2α; NHE3: the apical Na⁺/H⁺ exchanger isoform 3; EPO: erythropoietin; rPrA: the rostral raphe pallidus nucleus; IML: intermediolateral nucleus of spinal cord; AGE: advanced glycation end products; RAGE: receptor for advanced glycation end products; PKC: the protein kinase C; NHE1: Na⁺-H⁺ exchanger isoform 1; NLRP3: the NLR family, pyrin domain-containing 3; SR: sarcoplasmic reticulum; MD: macular densa; JG: juxtaglomerular cells; DCT: distal convoluted tubules; PT: proximal tubules.

6. Conclusion

L'ICFEp représente plus de la moitié des patients atteints d'IC et sa prévalence ne cesse d'augmenter. De nombreux échecs thérapeutiques ont eu lieu en se concentrant principalement sur une stratégie globale de traitement des patients atteints d'ICFEp. Il est nécessaire de prendre en compte ces échecs thérapeutiques afin d'obtenir une meilleure compréhension de la physiopathologie. Étant donné qu'il a été suggéré une possible stratification en 3 phénotypes des patients, il pourrait être intéressant de ne pas chercher à faire des modèles expérimentaux « multi-hits », mais d'utiliser des modèles récapitulant les caractéristiques de l'un des sous-groupes de patients. La présence d'une dysfonction endothéliale est très fréquemment observée. Il semble également nécessaire de mieux étudier les caractéristiques de cette dysfonction puisque seule la dysfonction du NO a été principalement étudiée et les essais thérapeutiques la ciblant se sont avérés être un échec. L'endothélium vasculaire

a) Cellules endothéliales

Les CE formant l'endothélium vasculaire ont pour origine le feuillet mésodermique. Elles sont polarisées, séparées des tissus environnants au niveau basolatéral par une lame basale, et exposées au sang à leur membrane luminale. Morphologiquement, ces cellules sont fines, allongées et mesurent environ entre 30 et 50 μm de longueur pour 10 à 30 μm de largeur. En fonction du type de vaisseau, leur épaisseur peut varier allant de 0,1 μm dans les capillaires et veines à 1 μm dans l'aorte (Florey 1966). Afin de limiter les contraintes de cisaillement induit par l'écoulement du sang, ces cellules s'orientent le long de l'axe du vaisseau. Plusieurs marqueurs sont caractéristiques de ce type cellulaire tel que PECAM1 (cluster of differentiation 31), le CD34 (cluster of differentiation 34), l'endogline (CD105), le vWF (facteur de Von Willebrand), la CDH5 (Cadherine-5) et les récepteurs VEGFR-1 et -2 (Garlanda and Dejana 1997).

En conditions physiologiques, les CE vasculaires maintiennent la fluidité du sang, régulent le tonus vasculaire, contrôlent la perméabilité de la paroi des vaisseaux et inhibent l'adhésion des leucocytes circulants (*figure 28*).

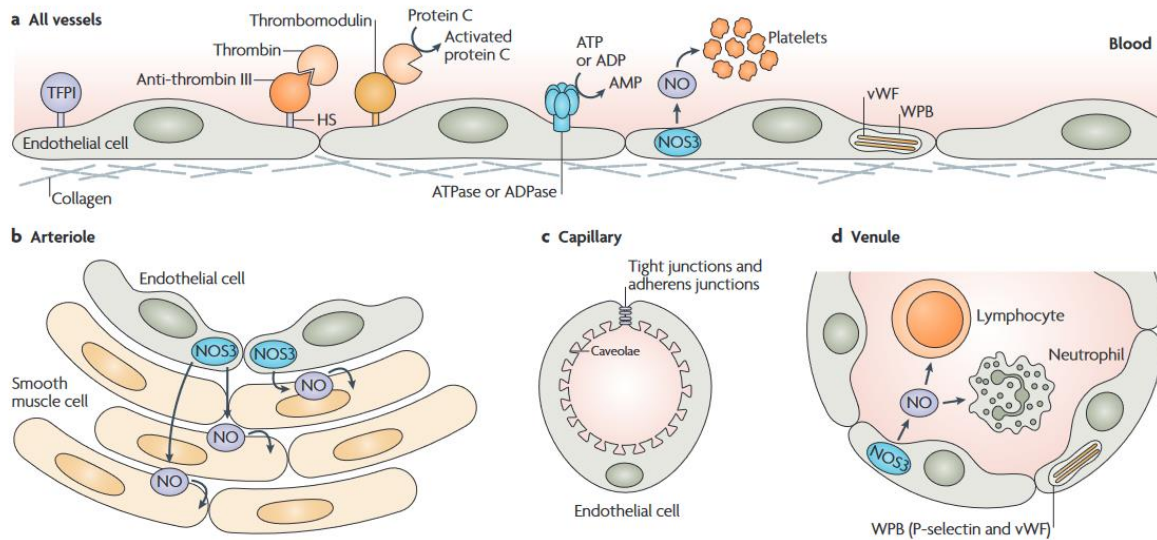


Figure 28 : Fonctions physiologiques des CE

(Pober and Sessa 2007) **A** | Les CE inhibent la coagulation du sang via inhibiteurs de la voie du facteur tissulaire (TFPI) bloquant les actions du complexe facteur-VIIIa-facteur tissulaire. Elles présentent à leur surface de l'héparane sulfate (HS) permettant à l'antithrombine III liée d'inhiber la thrombine. La thrombomoduline, qui se lie à la thrombine active de la protéine C. Les processus clés qui empêchent l'activation des plaquettes comprennent : l'inactivation de la thrombine, l'action des ATPases et des ADPases, la séquestration du vWF, dans les corps de Weibel-Palade (WPB), et la génération de NO par la NOS3, **B** | Les CE artérielles contrôlent le tonus des CML dans le média. Le principal régulateur est le vasodilatateur NO. **C** | Les CE capillaires sont les principaux régulateurs de l'extravasation des protéines plasmatiques en formant des jonctions intercellulaires contenant des éléments des jonctions serrées et des jonctions d'adhérence. Les cavéoles favorisent le transport vésiculaire de protéines plasmatiques. **D** | Les CE veineuses constituent le principal site du trafic des leucocytes du sang vers les tissus par l'intermédiaire de la cascade d'adhésion leucocytaire. La sélectine P, qui est exprimée de façon basale est séquestrée dans les WPB avec le vWF.

b) Perméabilité

L'endothélium agit comme une barrière semi-perméable et hautement sélective entre le sang et l'espace interstitiel.

Il existe des différences de perméabilité endothéliale en fonction du type de vaisseaux et de l'organe. Dans les microvaisseaux, la perméabilité est forte dans les veinules et faible dans les artérioles (Claesson-Welsh, Dejana, and McDonald 2021). Les lits vasculaires coronaires, pulmonaires, splanchniques et squelettiques sont composés de CE continues et non fenestrées, qui forment une barrière restrictive alors que le foie et les reins sont formés d'une monocouche de CE discontinue et hautement perméable (Mehta and Malik 2006).

La fonction de barrière endothéliale et la perméabilité vasculaire sont régies par des jonctions intercellulaires. Ces complexes de molécules d'adhésion transmembranaires reliées aux protéines cytoplasmiques ou au cytosquelette régulent l'extravasation de molécules en fonction de leur taille. Les molécules de moins de 3 nm, comme le glucose, l'eau et les ions, peuvent traverser les jonctions par la voie paracellulaire. En revanche, le transport de macromolécules de taille supérieure à

3 nm telles que l'albumine, les immunoglobulines G (IgG) s'effectue par voie transcellulaire (Trans endocytose) ou par l'intermédiaire de canaux (Sukriti et al. 2014).

Les CE adjacentes sont reliées par trois types de jonctions intercellulaires : les jonctions d'adhérence, les jonctions serrées et les jonctions communicantes (*figure 29*).

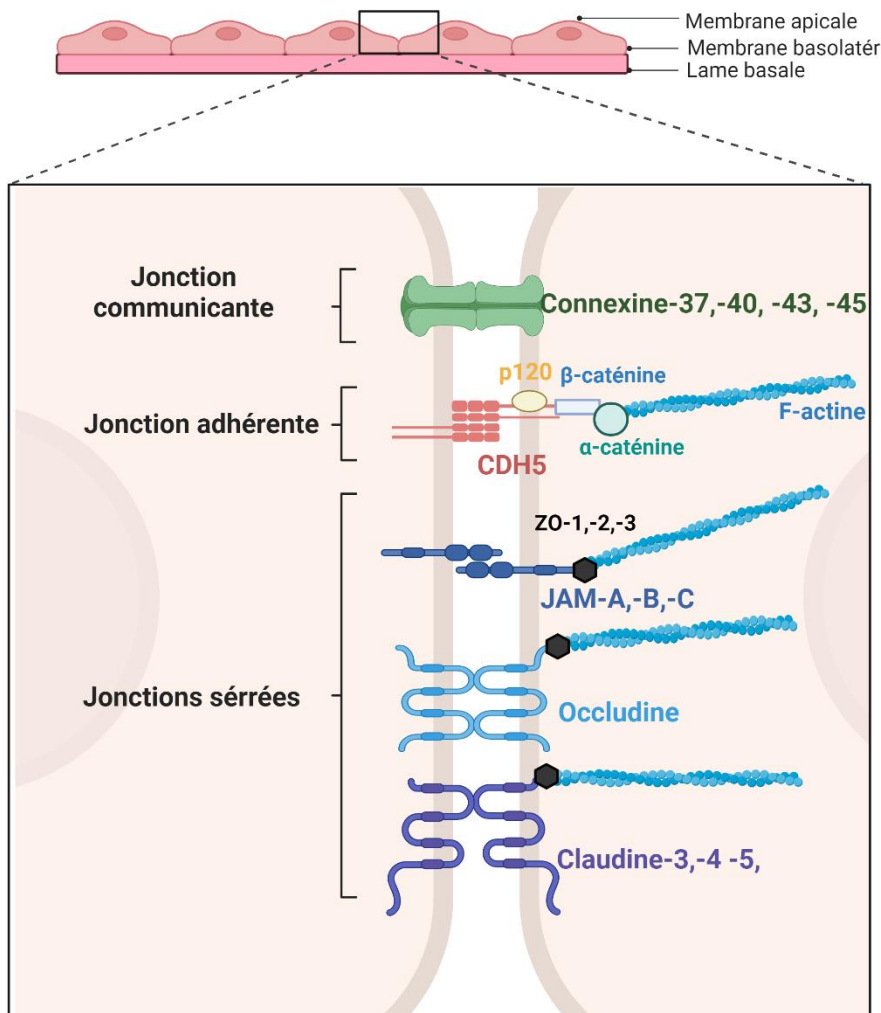


Figure 29 : Différents types de jonctions entre CE
Adapté de Elisabetta Dejana 2004

1. Les jonctions adhérentes

Les jonctions d'adhérence assurent la stabilité des contacts entre les CE. Elles contrôlent la perméabilité des composants plasmatiques et la transmigration leucocytaire. Ce type de jonction est présent dans tous les tissus, mais il est plus abondant dans les tissus soumis à d'importantes variations de tensions mécaniques comme le cœur et le muscle squelettique.

Ce type de jonction est principalement constitué de la protéine spécifique des CE : CDH5 (E. Dejana, Corada, and Lampugnani 1995) (*figure 29*). De nombreuses protéines (caténines α , β , γ [plakoglobine], p120 et vinculine) sont liées au domaine cytoplasmique de la CDH5 facilitant son ancrage au

cytosquelette d'actine et la modulation de l'expression de gènes (Bazzoni and Dejana 2004; Weis and Nelson 2006). Il est proposé que la perméabilité de ces jonctions soit régulée par la phosphorylation, le clivage et l'internalisation de la CDH5 (Elisabetta Dejana, Orsenigo, and Lampugnani 2008).

En outre, d'autres protéines telles que les phosphatases VE-PTP (VE-protein tyrosine phosphatase [PTP]) et DEP-1 (density enhanced protein tyrosine phosphatase-1) (Nottebaum et al. 2008) et le VEGFR2 (Vascular endothelial growth factor receptor 2) (Grazia Lampugnani et al. 2003) interagissent avec la CDH5 afin de permettre aux jonctions la transmission de signaux intracellulaires intervenants dans la régulation de la migration, de la prolifération cellulaire.

2. Les jonctions serrées

Contrairement aux jonctions d'adhérence, les jonctions serrées contrôlent la perméabilité de l'endothélium aux ions et aux petites molécules (<800 daltons). Elles ne sont pas uniformément réparties dans le système vasculaire. En effet, la barrière endothéliale artérielle est moins perméable que la barrière endothéliale veineuse et présente donc plus de jonctions serrées (expression d'occludine 18 fois supérieure) (Kevil et al. 1998).

Ce type de jonctions est majoritairement composé de protéines transmembranaires de la famille des claudines (claudine 4 et 5), des JAMs (junction-associated molecule) et des occludines. Elles sont reliées au cytosquelette d'actine par l'intermédiaire de protéines de la famille des zonula occludens (ZO-1, ZO-2 et ZO-3), des PAR-3/ASIP (Partitioning defective/atypical PKC isotype-specific interacting protein) et MUPP-1 (multi-PDZ domain protein 1) (Bazzoni and Dejana 2004; González-Mariscal, Tapia, and Chamorro 2008) (*figure 29*). La régulation des propriétés de ce type de jonction est associée à un mécanisme de modifications post-traductionnelles de la claudine (González-Mariscal, Tapia, and Chamorro 2008).

En plus de leur fonction de barrière sélective entre les pôles apicaux et basolatéraux, elles permettent de réguler la polarité cellulaire (Cereijido and Anderson 2001).

3. Jonctions communicantes

Les **jonctions communicantes ou jonctions gaps** sont des structures en forme de canaux reliant directement le cytoplasme de cellules adjacentes. Elles permettent les échanges intercellulaires d'ions de petites molécules hydrosolubles (< 1 kDa), d'acides aminés et de messagers secondaires (Harris 2007) sans exposition à l'espace extracellulaire. Cette communication intercellulaire est essentielle pour la modulation et la synchronisation de l'environnement intracellulaire entre les cellules adjacentes (Ramón and Rivera 1986).

Structurellement, ces jonctions entre les CE sont constituées de connexine 37 (Cx37), de connexine 40 (Cx40), et de connexine 43 (Cx43) (Pfenniger, Chanson, and Kwak 2013; C. E. Hill et al. 2002) possédant chacune quatre domaines transmembranaires et deux boucles extracellulaires (figure 29). La formation d'un hexamère de connexine va former un hémicanal (connexon). L'association de deux connexons issus de deux cellules différentes va former ensuite la jonction gap.

En plus de réguler la perméabilité, il est suggéré que la communication intercellulaire entre CML et/ou CE module les réponses vasomotrices observées le long de la paroi des artérioles en réponse aux changements de pression (Christ et al. 1996).

c) Vasomotricité

La vasomotricité fait référence aux réponses vasodilatatrices ou vasoconstrictrices de la circulation pour maintenir le débit sanguin. Pour une pression artérielle donnée, le débit sanguin de chaque organe est ajusté par des mécanismes centraux et locaux régulant le tonus des CML dans les petites artères terminales et les artérioles. L'endothélium vasculaire régule la vasomotricité au travers de la sécrétion de facteurs vasodilatateurs tels que monoxyde d'azote (NO), la prostacycline (PGI₂), l'endothelium-derived hyperpolarizing factor (EDHF). Outre la libération de facteurs vasodilatateurs, l'endothélium libère également des facteurs vasoconstricteurs tels que l'endothéline-1 (EDN1) et l'angiotensine II (Ang II). Ces effets locaux dépendants de l'endothélium vont avoir pour conséquence de réguler le débit sanguin coronaire (Lanza, Figliozzi, and Parrinello 2015).

1. Vasodilatateurs

a. NO

Furchgott et collaborateurs ont identifié l'ERDF (endothelial-derived relaxing factor) comme étant le plus puissant vasodilatateur endothélial (Furchgott and Zawadzki 1980). Ce puissant vasodilatateur a ensuite été identifié comme étant du NO endogène (Palmer, Ferrige, and Moncada 1987; Fleming and Busse 1999). **Le NO a une durée de demi-vie très courte, il est libéré de manière continue par les CE dans l'ensemble du réseau vasculaire** (D. D. Thomas et al. 2001). Il est synthétisé à la membrane endothéliale par l'enzyme NOS3 ou eNOS (Nitric oxide synthase 3) par oxydoréduction de L-arginine en L-citrulline et en NO (S. Moncada and Higgs 1991). La synthèse du NO est stimulée par les neurotransmetteurs (Acétylcholine et Norépinéphrine), les produits plaquettaires (sérotonine et ADP), la thrombine et les autacoïdes (bradykinine, endothéline). En outre, les stimuli les plus importants sont l'étirement pulsatile et des contraintes de cisaillement imposées par le flux sanguin (R. Busse and Fleming 2006). Le NO produit va ensuite diffuser à travers les membranes et stimuler la guanylate cyclase soluble. Cette stimulation augmente la concentration intracellulaire en GMPc dans les CML adjacentes et conduit à l'activation de la PKG (Protéine kinase G). Une fois activée, la PKG va phosphoryler différentes cibles intervenantes dans la recapture du Ca²⁺ vers le réticulum

sarcoplasmique ce qui entraîne la relaxation des CML et une vasodilatation (Fellner and Arendshorst 2010).

En plus de ses fonctions vasodilatatrices, le NO est un puissant inhibiteur de l'adhésion et agrégation plaquettaire (Nong et al. 1997) ainsi que de l'adhésion leucocytaire (Lefer et al. 1999).

b. Autres agents vasodilatateurs

La prostacycline (PGI₂) est un autre agent vasodilatateur important dérivé de l'endothélium, dont la libération est stimulée par les contraintes de cisaillement et en réponse à l'acétylcholine (Okahara, Sun, and Kambayashi 1998). La synthèse endothéliale de PGI₂ est dépendante de la disponibilité en acide arachidonique par la phospholipase A₂ (PLA₂) et de l'activité de la cyclooxygénase-1 (COX-1) dans les CE artérielles, veineuses et microvasculaires (Schrör 1985). Les effets de ce vasodilatateur sont médiés par une activation de la voie de l'AMPc (adénosine-monophosphate cyclique) dans les CML (Cahill and Redmond 2016).

Le terme EDHF ne décrit pas un facteur unique, mais plutôt une variété de mécanismes qui régulent le potentiel membranaire des CE. L'EDHF a une action vasodilatatrice en induisant une hyperpolarisation des CML via l'ouverture de canaux potassiques dépendants de l'ATP (Rudi Busse et al. 2002). Ce mécanisme entraîne une dépolarisation et la relaxation en diminuant la concentration intracellulaire en potassium.

2. Vasoconstricteurs

L'endothéline 1 (EDN1) est un peptide de 21 acides aminés généré de manière continue par l'enzyme de conversion de l'endothéline (Brunner et al. 2006). Il s'agit du plus puissant vasoconstricteur connu des microvaisseaux artériels coronaires. Sa libération est stimulée majoritairement par les contraintes de cisaillement, mais également l'angiotensine II, les catécholamines, l'interleukine-1 β , et l'hypoxie. L'EDN1 et le NO fonctionnent de manière interdépendante, le NO inhibant la libération endothéliale d'EDN1 et l'EDN1 inhibe la vasodilatation médiée par le NO (Lüscher et al. 1990; Thorin and Webb 2010). Les effets de cet agent vasoconstricteur sont liés à sa double action sur les récepteurs ET_A et ET_B sur les CML (Lavallée et al. 2001).

Les CE expriment l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA) et la dipeptidyl carboxypeptidase qui convertissent l'angiotensine-1 en Ang-II physiologiquement active. L'Ang-II exerce son activité sur les CML en se liant aux récepteurs à l'Ang-II de type 1 (AT₁). Cette interaction induit l'activation de la phospholipase C produisant de l'inositol-1,4,5-trisphosphate (IP₃) et du diacylglycerol (DAG). Ces deux composés produits vont ensuite provoquer la contraction des CML et donc une vasoconstriction au travers l'augmentation de la concentration en Ca²⁺ intracellulaire et la sensibilisation des myofilaments au Ca²⁺ (Kanaide et al. 2003).

d) Adhésion et transport de cellules inflammatoires

Les CE participent à la régulation de la réponse inflammatoire en contrôlant le passage des cellules inflammatoires du sang vers les tissus. En absence de stress (lésion tissulaire, inflammation) les CE vasculaires et les leucocytes ne sont pas adhésifs et n'interagissent pas entre eux.

L'adhésion des leucocytes à l'endothélium nécessite une liaison initiale qui dépend principalement de l'expression des sélectines. En l'absence de stimulus, la sélectine P et les chimiokines sont contenues dans des vésicules sécrétoires spécialisées appelées corps de Weibel-Palade. En outre, les niveaux d'autres molécules d'adhésion régulés au niveau transcriptionnel, telles que la E-sélectine, VCAM1 (Vascular cell-adhesion molecule 1), ICAM1 (intercellular adhesion molecule 1) sont faibles en condition basale (K. Ley and Reutershan 2006). Après un stimulus inflammatoire, une cascade d'adhésions leucocytaires se met en place. Durant cette phase, des réarrangements structuraux sont observés dans les CE et les leucocytes. Les CE organisent et coordonnent la transition des leucocytes à travers la paroi vasculaire et leur recrutement au niveau du tissu lésé ou infecté. Ce processus a été décrit comme comprenant 3 étapes majeures (Klaus Ley et al. 2007; Chavakis, Choi, and Chavakis 2009) (*figure 30*) :

- **le roulement ou rolling des leucocytes à la surface des CE.** Ce processus est médié par l'intermédiaire de la sécrétion des selectines (P et E selectines) et l'intégrine β_2
- **l'activation des intégrines** (CXCL8, CC-chemokine ligand 5 [CCL5], CXC-chemokine ligand 4 [CXCL4] et CXCL5) (Butcher 1991; von Hundelshausen et al. 2001).
- **l'adhésion médiée par les intégrines et l'expression de ICAM1 et VCAM1 par les CE.**

La transmigration ou diapédèse des leucocytes à travers la paroi veineuse est l'étape finale du processus de recrutement des leucocytes dans les tissus lésés et peut se réaliser de manière paracellulaire ou transcellulaire (Klaus Ley et al. 2007).

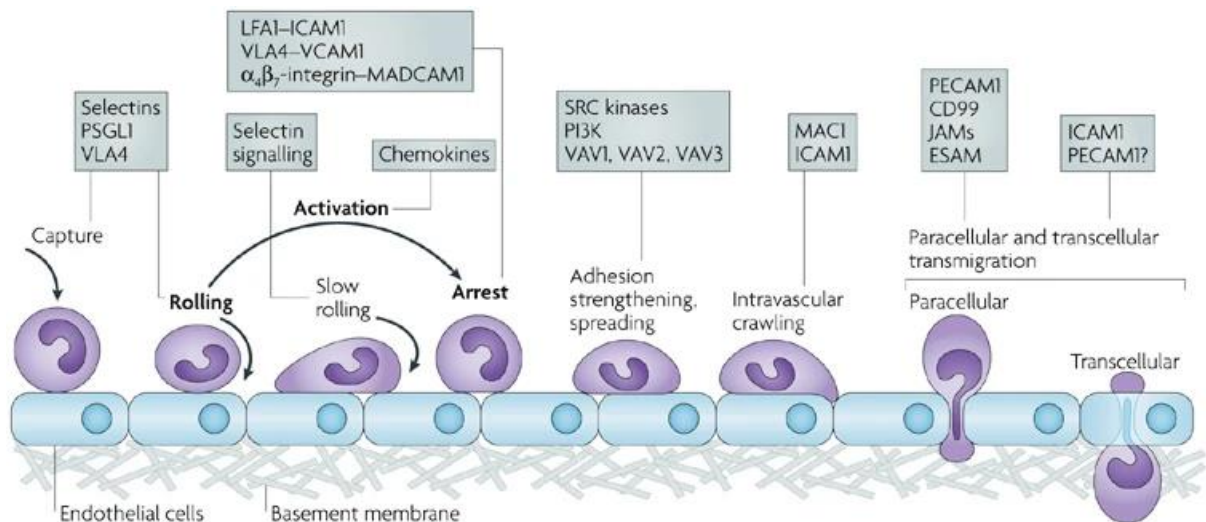


Figure 30 : Cascade d'adhésion leucocytaire

(Klaus Ley et al. 2007). Les trois étapes initiales sont indiquées en gras : le Rolling est médié par les sélectines, l'activation est médiée par les chimiokines, et l'arrêt est médié par les intégrines. Des étapes supplémentaires interviennent : capture (ou attachement), rolling lent, renforcement et propagation de l'adhésion, rampe intravasculaire et transmigration paracellulaire et transcellulaire. Les molécules clés impliquées dans chaque étape sont indiquées dans des encadrés : ESAM, endothelial cell-selective adhesion molecule; LFA1, lymphocyte function-associated antigen 1 ($\alpha\text{L}\beta\text{2}$ -intégrine); MAC1, macrophage antigen 1; MADCAM1, mucosal vascular addressin cell-adhesion molecule 1; PSGL1, P-selectin glycoprotein ligand 1; PECAM1, platelet/endothelial-cell adhesion molecule 1; PI3K, phosphoinositide 3-kinase; VCAM1, VLA4, very late antigen 4 ($\alpha\text{4}\beta\text{1}$ -intégrine).

e) Maintien de la fluidité sanguine

1. Surface hémocompatible et thromborésistante

L'endothélium vasculaire est une surface hémocompatible (figure 28) qui physiologiquement ne réagit pas avec les plaquettes, les leucocytes, et les autres éléments de la coagulation. Les CE composant l'endothélium des veines et artères sont antithrombotiques par l'intermédiaire de processus passifs (charge électro-négative) et actifs (synthèse de molécules antithrombotiques) s'opposant au développement d'évènements thrombotiques anarchiques.

À la suite d'une brèche vasculaire et de l'exposition du sous-endothélium, les CE vont interagir avec les plaquettes, les leucocytes et les facteurs de coagulation dans un processus d'hémostase physiologique. Ce processus a pour but de conduire à la création rapide d'un caillot constitué de plaquettes agrégées et de fibrine au niveau d'une brèche vasculaire dans le but de limiter l'extravasation de sang. Elle est divisée en trois étapes interdépendantes :

– l'hémostase primaire avec la formation d'un thrombus plaquettaire (« thrombus blanc ») au niveau du site de lésion.

– **la coagulation plasmatique** avec l'activation d'une cascade de facteurs permet la formation d'un réseau de fibrine consolidant le thrombus plaquettaire.

– **la fibrinolyse permettant** à la fois de limiter la formation du caillot de fibrine à la brèche et la dissolution de ce dernier une fois la brèche cicatrisée.

À l'état physiologique, il s'agit d'un processus complexe, localisé, rapide, régulé par des inhibiteurs, des activateurs et nécessitant un équilibre entre les processus de coagulation et de fibrinolyse. Ce processus est étroitement régulé et contrôlé en partie par l'endothélium afin de prévenir toute suractivation anormale de la coagulation et d'assurer la fluidité sanguine en l'absence de toute pathologie (McRae 2011). En effet, les CE interviennent dans la régulation des trois étapes de l'hémostase. En temps normal, elles s'opposent à l'activation, à l'adhésion et à l'agrégation des plaquettes et régulent la coagulation plasmatique. Cependant, leur activation favorise l'adhésion des plaquettes en libérant des facteurs pro-thrombotiques (vWF, P-selectine) et du t-PA intervenant dans la fibrinolyse.

a. Hémostase primaire

En l'absence de lésion endothéliale, les plaquettes n'interagissent pas avec les facteurs prothrombotiques présents dans le sous-endothélium. En revanche en présence d'une lésion, le sang entre en contact avec les éléments thrombogènes du sous-endothélium, initiant le processus d'hémostase primaire aboutissant à la formation d'un thrombus plaquettaire également appelé thrombus blanc. L'hémostase primaire peut être définie en deux temps : **un temps vasculaire** et un **temps plaquettaire**.

i. Temps vasculaire

Dans un premier temps, en réponse à la perte d'intégrité vasculaire, une vasoconstriction immédiate des vaisseaux de petits calibres va se mettre en place par l'intermédiaire de mécanismes passifs (élasticité de la paroi) et actifs (système sympathique). Durant ce temps vasculaire, une diminution du diamètre des petits vaisseaux, ainsi qu'un ralentissement local du débit sanguin vont favoriser les interactions entre les plaquettes et l'endothélium.

ii. Temps plaquettaire

Les plaquettes sont de petits fragments cytoplasmiques (1 à 3,5 μm de diamètre) mégacaryocytaires générés dans la moelle osseuse, qui à l'état de repos, sont de petites structures discoïdes. Des millions de plaquettes sont produites chaque jour et le nombre de plaquettes circulantes chez l'adulte se situe normalement entre 150 et 400 x 10⁹/L. Bien qu'anucclées, les plaquettes sont

métaboliquement actives et interagissent avec l'environnement local par la liaison de leurs récepteurs glycoprotéiques de surface à des ligands spécifiques. **Durant le temps plaquettaire (figure 31), il est nécessaire que les plaquettes subissent 3 phases : adhésion, activation et agrégation.**

Dans un premier temps, les plaquettes vont adhérer à la matrice sous-endothéliale composée de collagène, myofibrilles, thrombospondines, principalement par l'intermédiaire de l'interaction du vWF activé avec le complexe glycoprotéique GPIb-IX-V plaquettaire (Ruggeri 1999; R. K. Andrews et al. 2003; Ruggeri and Mendolicchio 2007). Dans un second temps, les plaquettes vont s'activer et dégranuler (P-selectine soluble, sCD40L, β -thromboglobuline, facteur plaquettaire 4 [PF4], thromboxane A2[TxA₂], ADP) (Yun et al. 2016). Enfin, ces dernières vont s'agréger entre elles grâce au changement de conformation de la glycoprotéine GPIIb-IIIa en un récepteur à forte affinité au fibrinogène et la formation de ponts de fibrinogène (McRae 2011; Varga-Szabo, Pleines, and Nieswandt 2008; Gentry, Burgess, and Wood 2008).

En cas de lésion des petits capillaires fins, l'unique présence d'un thrombus plaquettaire peut suffire pour arrêter le saignement. En revanche, une lésion des vaisseaux de gros calibre nécessitera le renforcement du thrombus par formation du caillot de fibrine.

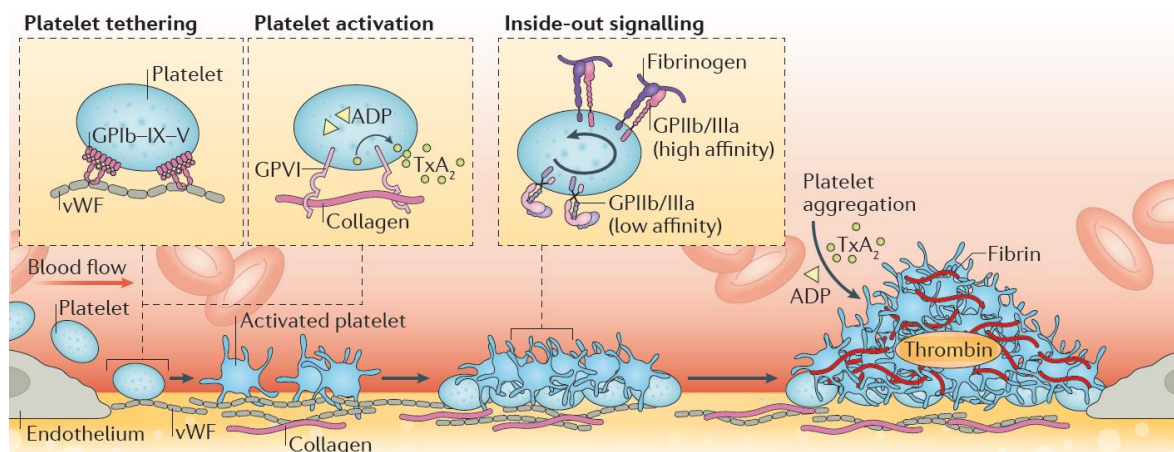


Figure 31 : Schéma de l'hémostase physiologique

Adapté de McFadyen, Schaff, and Peter 2018. Après exposition des protéines de la matrice sous-endothéliale thrombogène, le vWF se déroule, exposant ainsi de multiples sites de liaison pour la glycoprotéine plaquettaire (GP)Ib-IX-V. Sous l'effet du cisaillement artériel, l'adhésion des plaquettes est médiée par des interactions entre la GPIb et le vWF, ce qui permet à la GPVI de se lier au collagène. La liaison du collagène à la GPVI entraîne l'activation des plaquettes et la libération des agonistes solubles, d'ADP et du thromboxane A2 (TxA₂), conduisant à l'activation de la GPIIb/IIIa via la signalisation inside-out. La GPIIb/IIIa activée se lie au FGN et agit comme un pont pour l'agrégation des plaquettes. Le thrombus plaquettaire naissant est renforcé par la libération d'agonistes solubles, tels que l'ADP et le TxA₂. La génération de thrombine est initiée par la libération du facteur tissulaire de la plaque et se produit à la surface des plaquettes fortement activées, ce qui entraîne la formation d'un réseau de fibrine qui stabilise le thrombus plaquettaire.

iii. Contrôle endothélial de l'hémostase primaire

Les CE régulent l'hémostase primaire en synthétisant et assurent le stockage du vWF dans les corps de Weibel-Palade où il y restera sous forme inactive jusqu'à sa libération dans le sang (Sadler 2009). Plusieurs autres protéines sont également stockées dans ces vésicules, notamment la P-sélectine, l'angiopoïétine-2 et dans une moindre mesure le t-PA et l'II-8 (Fiedler et al. 2004; Bae and Rezaie 2010). La libération de vWF est stimulée par des agents vasoactifs (histamine, bradykinine, vasopressine, thrombine) qui via un mécanisme dépendant de la PKC provoquent la fusion des corps de Weibel-Palade à la membrane. Ensuite, des multimères de vWF dits « ultra-larges » (ULVWF) pouvant atteindre plusieurs millimètres de long se forment, s'alignent à la surface de l'endothélium lésé, et interagissent avec les plaquettes. Les CE contrôlent également majoritairement la synthèse et potentialisent l'activité d'ADAMTS13 (A disintegrin-like and metalloprotease with thrombospondin type 1 repeats-13), une metalloprotéase régulant la réponse thrombotique en clivant et libérant les multimères de vWF dans le plasma (N. A. Turner et al. 2009; Vomund and Majerus 2009) (*tableau 6*).

Les CE synthétisent également du NO et de la prostaglandine qui agissent en synergie en tant qu'inhibiteurs plaquettaires et vasodilatateurs (Radomski, Palmer, and Moncada 1990).

Le NO synthétisé va interagir sur les CML et permettre une action vasodilatatrice. En diffusant et en agissant sur la guanylate cyclase plaquettaire, le NO va s'opposer à la libération de Ca^{2+} intracellulaire nécessaire à leur activation et leur agrégation (Pohl et al. 1994).

La prostacycline ou prostaglandine E2 agit indépendamment du NO (S. Moncada, Higgs, and Vane 1977). La PGI2 est générée à partir de l'acide arachidonique par l'action de la cyclooxygénase (COX-1 et COX-2) et libérée par les CE (K. K. Wu and Liou 2005). À la surface des plaquettes, le PGI2 agit comme un antagoniste physiologique du TxA2, puis par une voie de signalisation AC/AMPC/PKA inhibe la mobilisation du Ca^{2+} et la libération des granules plaquettaires (S. Braune, Küpper, and Jung 2020; Nakamura, Kimura, and Aviv 1995). Dans les CML, elle exerce son action vasodilatatrice en inhibant la chaîne légère de la myosine kinase (Fetalvero, Martin, and Hwa 2007)(*tableau 6*).

La surface des CE héberge des ectonucléotidases (CD39), qui empêchent le recrutement plaquettaire en convertissant rapidement l'ADP, en adénosine ayant également une activité vasodilatatrice (Deaglio and Robson 2011; Marcus et al. 1991) (*tableau 6*).

Les mécanismes cités ci-dessus visent à prévenir l'activation et l'agrégation plaquettaire. Toutefois, il est supposé que l'activation des CE par la thrombine augmente la synthèse et l'activité de la metalloprotéase ADAMTS18. ADAMTS18 dégrade les agrégats en se liant au GPIIIa plaquettaire (Z. Li et al. 2009; 2007) (*tableau 6*).

Hémostase primaire	Vasodilatation	– Production de NO et de PGI2/PGE2
	Adhésion/activation plaquettaire	– Production et libération aiguë de vWF
		– Clivage du vWF par ADAMTS13 – Répulsion électrique par les héparanes sulfates chargés négativement – Réduction de l'activation plaquettaire par la libération de NO et de PGI2/PGE2 – Expression d'ectonucléotidases
Agrégation plaquettaire	– Dégradation des agrégats par ADAMTS18	
Coagulation plasmatique	– Liaison de l'antithrombine III – Expression de la TM et activation de la protéine C – Expression de l'EPCR – Libération de l'inhibiteur de la voie du facteur tissulaire (TFPI)	
	– Activation aiguë de PAR-1	
Fibrinolyse	– Synthèse et libération aiguë de t-PA	
	– Synthèse et libération d'u-PA	
	– Synthèse et libération de PAI-1	

Tableau 6 : Contrôle de l'hémostase par l'endothélium
Adapté d'après V. W. M. van Hinsbergh 2012

b. Coagulation plasmatique

La coagulation plasmatique est réalisée en parallèle du recrutement plaquettaire et permet la consolidation du thrombus plaquettaire au site de lésion. La coagulation comprend la voie exogène ou extrinsèque initiée par facteur tissulaire (FT) et la voie intrinsèque initiée par le facteur XII (*figure 32*).

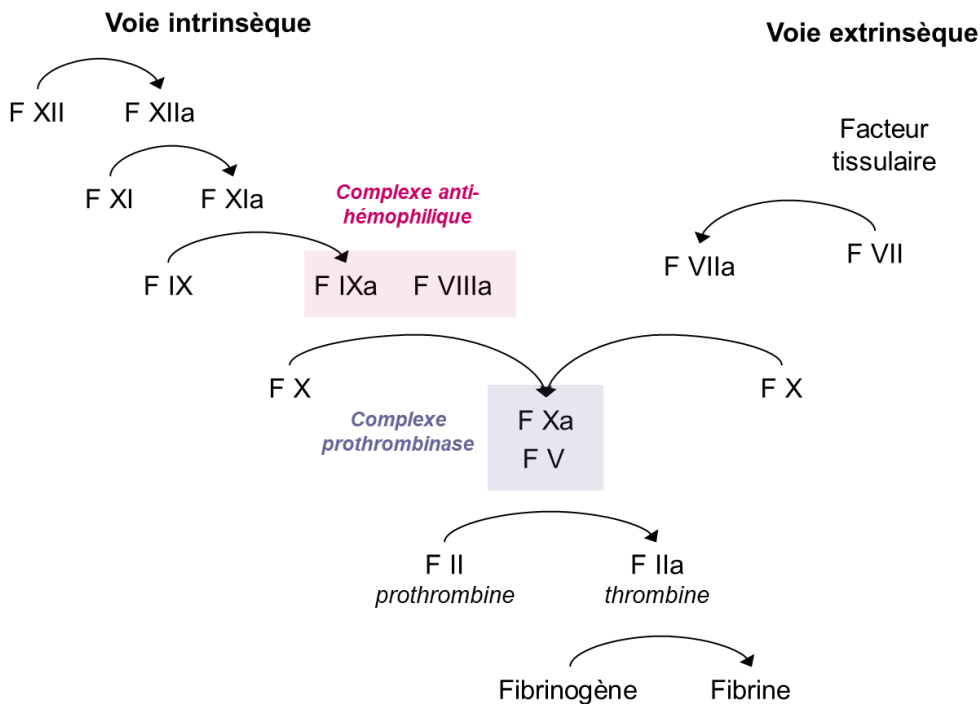


Figure 32 : Voie intrinsèque et extrinsèque

La plupart des protéines de la coagulation circulent dans le plasma sous forme de zymogènes inactifs, mais lorsqu'elles reçoivent le catalyseur approprié, elles sont activées en cascade pour produire finalement de la thrombine puis de la transformation du fibrinogène en fibrine primordiale pour la stabilisation du caillot. L'essentiel des réactions enzymatiques va être réalisé à la surface des plaquettes activées riche en phospholipides anioniques (mécanisme de « flip-flop » de la membrane plasmique). Ce processus nécessite la présence calcium et va aboutir à la formation d'un dépôt de fibrine réticulée au sein du caillot emprisonnant des leucocytes et érythrocytes (« thrombus rouge »). La cascade de coagulation va faire intervenir deux types de facteurs : les précurseurs enzymatiques (vitamine-K dépendante et non-vitamine — k dépendant) et les co-facteurs enzymatiques. En situation physiologique, l'ensemble de la cascade de coagulation débute par l'intermédiaire de la voie extrinsèque.

i. Voie extrinsèque

Le facteur tissulaire (FT) est une protéine transmembranaire qui est exprimée de manière constitutive à la surface de la plupart des cellules non vasculaires, y compris celles situées dans le sous-endothélium (McRae 2011). **La voie intrinsèque ou dite « voie du facteur tissulaire » débute lorsque le sang entre en contact avec le FT présent dans le sous-endothélium (figure 32).** Le FT va ensuite se fixer au facteur VII (FVII), l'activer et s'associer à ce dernier pour former un complexe FT/FVIIa

permettant d'activer les facteurs X (FX) et le facteur IX (FIX) en facteurs Xa (FXa) et facteur IXa (FIXa). Suite à son activation, le FXa va se lier au facteur V non activé, pour former le complexe prothrombinase (FXa-V), entraînant la génération de thrombine (FIIa) à partir de prothrombine (Gentry, Burgess, and Wood 2008; McRae 2011; Periyah, Halim, and Mat Saad 2017). Au cours de cette première phase, le taux de génération de thrombine en présence de facteurs V et VIII non activés est faible (Orfeo et al. 2004).

La thrombine générée va ensuite être capable d'activer les facteurs V et VIII. La formation des complexes tenase (FIXa-FVIIIa) et prothrombinase (FXa-FVa) à partir des facteurs activés va permettre d'amplifier la génération de thrombine et d'activer un acteur de la voie d'amplification intrinsèque : le facteur XIa.

ii. Contrôle par l'endothélium

L'initiation de la voie extrinsèque est régulée par l'inhibiteur de la voie du facteur tissulaire (TFPI) synthétisé par les CE. Lorsque la concentration locale en FXa est suffisante, cet inhibiteur se lie au complexe FT-FVIIa afin d'inhiber la génération de FXa et empêcher la poursuite de la cascade par le haut (Baugh, Broze, and Krishnaswamy 1998; Gentry, Burgess, and Wood 2008; McRae 2011).

iii. Voie intrinsèque

Cette cascade de réactions fait suite à la voie extrinsèque afin de stimuler et amplifier la production de thrombine, mais ne participe pas à l'initiation de la coagulation in vivo. Elle fait intervenir du kininogène de haut poids moléculaire (KHPM) et du facteur XII activé. Le FXIIa, à son tour va activer le facteur XI en facteur XIa, qui active le facteur IX en FIXa. Finalement, le facteur IXa va former un complexe FIXa — VIIIa permettant l'activation du facteur X (*figure 32*).

La thrombine générée par ces deux voies de coagulation extrinsèques puis intrinsèques va ensuite permettre la « **fibrino formation** ». Ce mécanisme permet la conversion du fibrinogène soluble en monomères de fibrine insoluble par un clivage des fibrinopeptides A et B. Enfin, un réseau solide de fibrine réticulée est formé par la transglutaminase (Facteur XIII), elle-même activée par la thrombine afin qu'un thrombus stable puisse se former au site de lésion vasculaire (Gentry, Burgess, and Wood 2008).

iv. Contrôle par l'endothélium

L'antithrombine III (ATIII) est un puissant inhibiteur de la thrombine. Elle est liée à des héparanes sulfates spécifiques des protéoglycanes du glycocalyx à la surface endothéliale (Bauer and Rosenberg 1991). Une activité insuffisante de l'antithrombine III s'accompagne de graves complications thrombotiques.

La thrombomoduline et le récepteur endothélial de la protéine C (EPCR) sont impliqués dans la génération de protéine C activée (aPC) anticoagulante et peuvent interrompre la cascade de la coagulation en clivant les facteurs Va et VIIIa. La protéine transmembranaire thrombomoduline est synthétisée principalement par les CE, elle est exprimée de façon ubiquitaire en réponse aux contraintes de cisaillement (Takada et al. 1994; Parmar et al. 2006, 2). La formation d'un complexe thrombine/thrombomoduline va permettre l'activation de la protéine C. La protéine C activée va ensuite se lier à la protéine S (PS), son cofacteur, et va inhiber les facteurs Va et VIIIa. Les effets anticoagulants de l'aPC sont potentialisés par l'EPCR favorisant sa localisation à la surface de la CE (Mohan Rao, Esmon, and Pendurthi 2014) (figure 33, tableau 6).

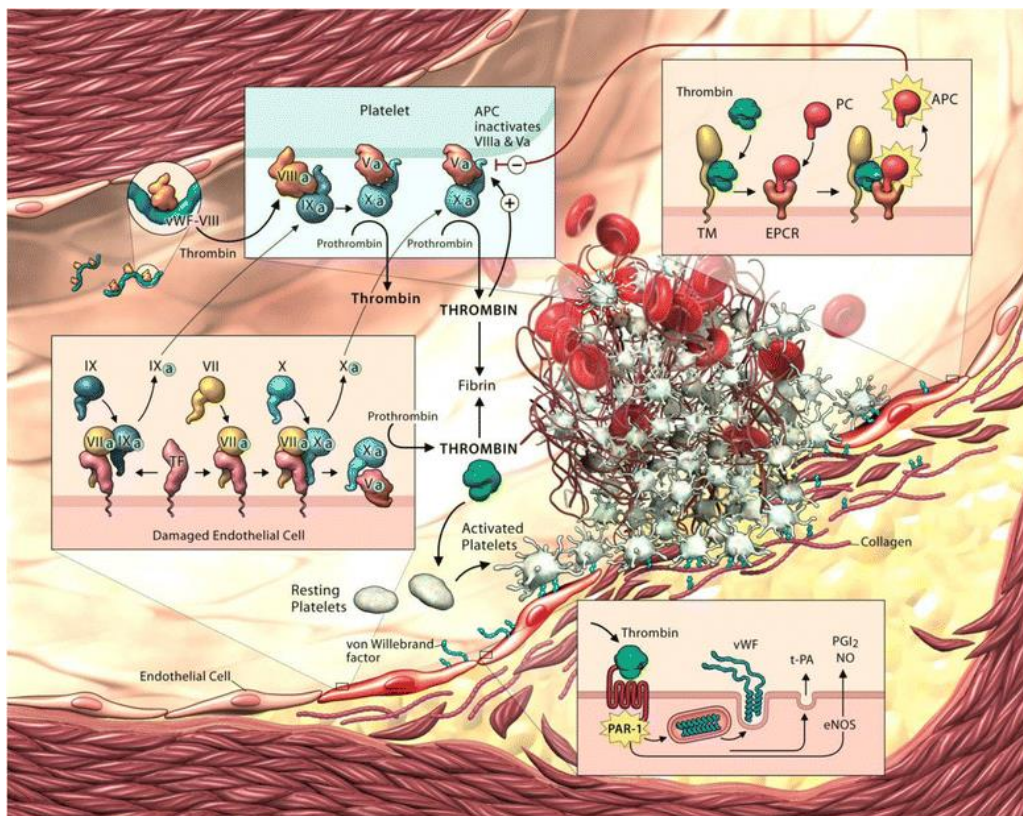


Figure 33 : Effets de la thrombine sur la régulation de l'hémostase par les cellules endothéliales

Yau, Teoh, and Verma 2015 Abréviations : TM thrombomoduline, APC protéine C activée, ATIII antithrombine III, PAR-1 récepteur activé par la protéase-1, EPCR récepteur endothélial de la protéine C, t-PA activateur tissulaire du plasminogène, vWF facteur de von Willebrand, eNOS endothéliale NO synthase, PGI2 prostacycline, PGE2 prostaglandine

L'endothélium régule la formation des caillots en partie par l'activation dépendante de la thrombine de PAR-1 (Adams et al. 2011). Son activation par la thrombine est responsable de la production NO et de prostacycline limitant l'activation plaquettaire et libère le t-PA fibrinolytique. Cependant, cette activation est essentiellement prothrombotique en favorisant la libération du vWF et de la P-Sélectine contenus dans les corps de Weibel-Palade (Coughlin 2000) (*figure 33, tableau 6*).

c. Fibrinolyse

La fibrinolyse correspond à la lyse du caillot de fibrine réticulée une fois le vaisseau cicatrisé. Le principal composant enzymatique de ce système est la plasmine, qui, comme la thrombine, est une sérine protéase, mais dont la spécificité du substrat est plus large. Au cours de la phase d'initiation, l'activateur tissulaire du plasminogène (t-PA) (sérine protéase de 70-kDa à faible activité pour le plasminogène en l'absence de fibrine) est libéré par les CE après leur exposition à des agents vasoactifs ou à la thrombine. Ensuite, le plasminogène zymogène circulant dérivé du foie est transformé en une protéase active, la plasmine, et la concentration en plasmine dans la zone du caillot à lyser est augmentée par des réactions d'amplification (Gentry, Burgess, and Wood 2008; Rijken and Lijnen 2009). La plasmine en tant que sérine protéase va ensuite procéder au clivage des ponts peptidiques de la fibrine et former des produits de dégradation spécifiques nommés D-dimères. Lorsqu'elles sont activées par des cytokines inflammatoires, les CE peuvent également synthétiser l'activateur du plasminogène de type urokinase (u-PA) (V. W. van Hinsbergh et al. 1990).

Le système fibrinolytique est régulé à la baisse par une glycoprotéine (52 kDa) de la famille des serpins synthétisée par de nombreux types cellulaires, dont les CE en réponse à des cytokines inflammatoires : l'inhibiteur de l'activateur du plasminogène de type 1 (PAI-1) (Sawdey and Loskutoff 1991; V. W. van Hinsbergh et al. 1988). **Le PAI-1 inhibe la conversion du plasminogène en plasmine par les t-PA et u-PA** (Sillen and Declerck 2021).

f) Conclusion

L'incapacité des CE à remplir correctement l'une des fonctions décrite ci-dessus (barrière endothéliale perméable, vasomotricité, adhésion et transport de cellules inflammatoires et contrôle de l'hémostase) constitue ce qu'on appelle la dysfonction endothéliale. Le plus souvent, ce terme décrit l'incapacité des CE artérielles à produire suffisamment de NO, ce qui entraîne une vasoconstriction des vaisseaux. Mais il définit également la perte des fonctions anticoagulantes, l'altération de ses fonctions de barrière semi-perméable sélective et un recrutement et une adhérence des cellules inflammatoires exacerbées.

4) Dysfonction vasculaire et ICfEp

Comme mentionné dans le chapitre B, environ 75 % des patients atteints d'ICfEp présentent une **dysfonction microvasculaire**. Toute altération des propriétés des CE vasculaires coronaires peut entraîner des répercussions sur le cardiomyocyte. Dans le cadre de l'ICfEp, la présence d'une dysfonction endothéliale et un changement du phénotype des cardiomyocytes sont observés.

a) Altération de la fonction des cardiomyocytes par les CE

Les CE vasculaires agissent sur l'homéostasie des cardiomyocytes par l'intermédiaire de trois fonctions principales (Cornuault et al. 2022)(*figure 34*) :

— **les CE vasculaires coronaires contribuent à l'apport en nutriments et en oxygène aux cardiomyocytes.**

— **la production de signaux paracrines** nécessaires à l'homéostasie des cardiomyocytes (NO, l'endothéline 1 [EDN1] et l'apeline [APLN]).

— **Le contrôle du microenvironnement cardiomyocytaire.** La dysfonction endothéliale peut affecter indirectement la fonction des cardiomyocytes en modifiant leur microenvironnement. En particulier, le dysfonctionnement des CE peut favoriser la fibrose cardiaque, l'inflammation cardiaque ou l'œdème cardiaque par le biais d'une production accrue de signaux pro fibrotiques et pro inflammatoires ou d'une altération des propriétés de la barrière endothéliale.

La perturbation d'une de ces trois fonctions peut entraîner une modification du phénotype des cardiomyocytes associé à l'IC.

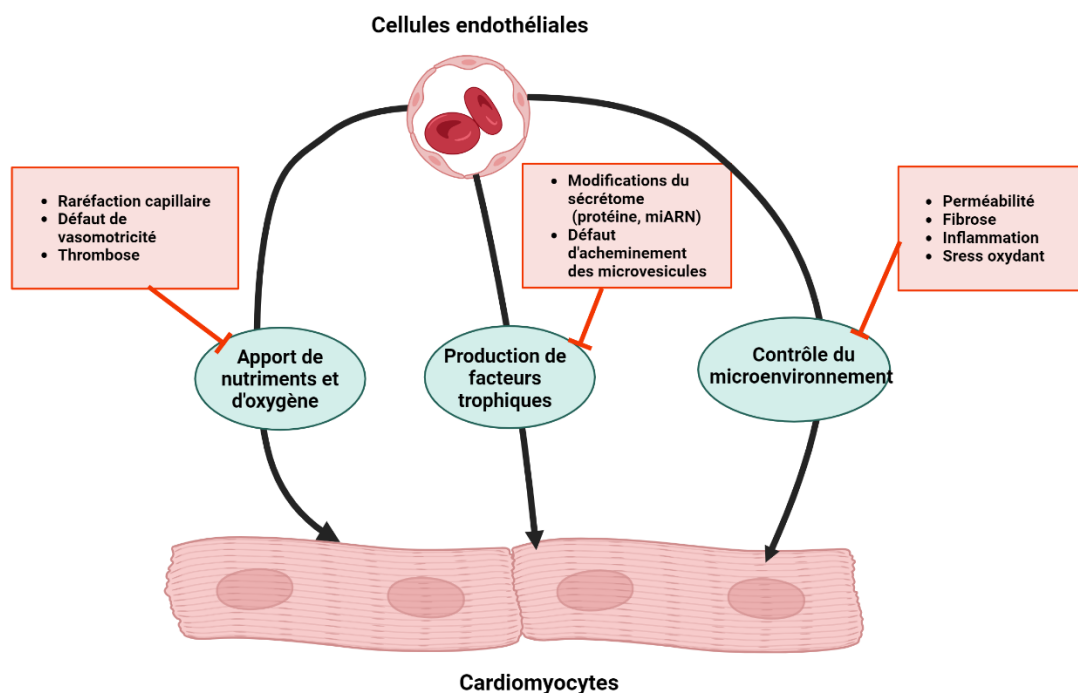


Figure 34 : Communication cellule endothéliale — cardiomyocyte
Adapté de Cornuault et al. 2022

1. Défaut d'apport en oxygène/nutriments

Un **défaut d'apport en oxygène par les microvaisseaux coronaires est observé chez les patients atteints d'ICFEP et des facteurs de risques qui lui sont associés** (van Empel et al. 2014; van de Wouw et al. 2020). Connaissant la forte dépendance du myocarde en oxygène, une perturbation du flux sanguin coronaire lié à une dysfonction endothéliale (raréfaction, perte de vasomotricité artérielle, thrombose) peut avoir d'importantes répercussions sur la fonction cardiomyocytaire (figure 34).

a. Raréfaction capillaire/défaut d'angiogenèse

Les capillaires assurent les échanges d'oxygène avec les cardiomyocytes, une diminution de leur densité pourrait avoir d'importantes répercussions sur le phénotype de ces derniers (figure 34). L'angiogenèse a été démontrée comme nécessaire à la croissance et à l'hypertrophie adaptative et physiologique des cardiomyocytes. En effet, la surexpression cardiaque du peptide régulateur de l'angiogenèse (PR39) et du facteur de croissance placentaire (PGF) pro angiogéniques a induit une hypertrophie dépendante du NO endothélial (Tirziu et al. 2007; Jaba et al. 2013). En accord avec ces observations, il est proposé qu'une hausse de la densité en capillaires cardiaques peut induire une

hypertrophie cardiomyocytaire via la Neureguline-1 (Kivelä et al. 2019). A contrario, il est mis en évidence qu'une perte de densité capillaire est capable d'induire une atrophie cardiaque (Giordano et al. 2001) et que l'inhibition des réponses pro angiogéniques de la signalisation VEGF dans un modèle murin de surcharge de pression a diminué l'hypertrophie, mais exacerbé l'altération de la fonction cardiaque (Izumiya et al. 2006).

L'ensemble de ces données confirme le lien entre la densité en capillaire coronaire et l'hypertrophie des cardiomyocytes.

b. Défaut de vasomotricité

La régulation de la vasomotricité des artères et artérioles peut être modulée par l'endothélium via la synthèse de substances vasoactives. Il s'agit de l'un des principaux mécanismes par lequel l'augmentation de la demande du myocarde est compensée par des augmentations du débit sanguin (Feliciano and Henning 1999). Dans ce contexte, les effets d'une dysfonction endothéliale associés à un défaut de NO ont été étudiés. Dans un modèle murin de diabète induit par la streptozotocine (STZ), Cao et collaborateurs ont mis en évidence qu'une administration chronique d'un donneur de NO (1-nitrosocyclo hexyl acetate) améliore le flux coronaire, la fonction diastolique et l'hypertrophie cardiomyocytaire (N. Cao et al. 2015). En revanche, les effets du NO sont multiples (agrégation plaquettaire, fibrose, mobilisation de cellules souches et progénitrices, inflammation) rendant difficile l'attribution des effets observés uniquement à son action vasodilatatrice (Gantner, LaFond, and Bonini 2020).

c. Thrombose

La perturbation du débit sanguin coronaire et de l'oxygénation du myocarde pourrait également être le résultat d'une occlusion partielle ou complète des microvaisseaux (*figure 34*). Contrairement à la thrombose des gros vaisseaux déjà étudiée dans les cardiomyopathies ischémiques, seules deux études expérimentales ont étudié l'impact de la thrombose des microvaisseaux dans l'IC. Il a été démontré par Tang et collaborateurs que l'activation des neutrophiles favorise formation de microthrombi riches en fibrine et exacerbe l'hypoxie cardiaque, l'hypertrophie cardiomyocytaire et la dysfonction diastolique induites par Ang II (Tang et al. 2022). Dans un modèle de surcharge de pression ventriculaire gauche, l'administration de l'enzyme clivant le vWF sous forme recombinante (ADAMTS13 ; A disintegrin-like metalloproteinase with thrombospondin motif type 1 member 13) a permis d'améliorer la fonction cardiaque en diminuant le vWF associé à la surface endothéliale et la fibrose cardiaque (Witsch et al. 2018).

2. Défaut de fonction paracrine

La communication paracrine des CE vers les cardiomyocytes a été associée à une modulation de leur activité contractile et un effet anti apoptotique en condition inflammatoire, hypoxique et hyperglycémique (Segers, Brutsaert, and De Keulenaer 2018; Homme et al. 2021; Y. Cao et al. 2021; W. Liu et al. 2022; J. Hu et al. 2018). **Dans ce contexte, un défaut du secrétome des CE pourrait modifier les propriétés des cardiomyocytes (figure 34).**

a. Libération de NO

En plus de la régulation du tonus vasculaire, les effets du NO sont multiples sur la fonction cardiomyocytaire, mais étroitement liés à sa concentration. Le NO émet un signal en activant la sGC (guanylate cyclase soluble) qui produit du GMPc (Guanosine monophosphate cyclique). Des niveaux élevés de NO et de GMPc activent la PRKG1, tandis que des niveaux faibles de GMPc inhibent la phosphodiesterase 3, ce qui entraîne une augmentation des niveaux d'AMPc (adénosine-monophosphate cyclique) et l'activation de la protéine kinase activée par l'AMPc (PRKA).

Il est proposé qu'un effet inotrope positif à faible concentration favorise l'ouverture des canaux calciques voltages dépendant du sarcolemme et la libération de Ca^{2+} par les RyR2 (Cotton et al. 2001; Rastaldo et al. 2007). En revanche, à forte concentration les effets du NO sont inotrope négatifs (Rastaldo et al. 2007). Ils diminuent l'ouverture des canaux calciques voltages dépendants et inhibent la synthèse de l'ATP mitochondriale (Kojda and Kottenberg 1999). Plusieurs autres isoformes que la NOS3 sont présentes dans d'autres types cellulaires du cœur, notamment la NOS neuronale (NOS1) et la NOS inductible (NOS2). Il est suggéré que les NOS3 et NOS1 produisent de faibles niveaux de NO, tandis que la NOS2 produit des niveaux élevés de NO (Rastaldo et al. 2007).

Le NO régule le métabolisme de l'oxygène en agissant sur la cytochrome oxydase mitochondriale (Trochu et al. 2000; Seddon, Shah, and Casadei 2007). En plus de cette fonction, il a été associé à une modulation de la fréquence cardiaque (Tsutsui et al. 2015), de la croissance et de la rigidité des cardiomyocytes (Rastaldo et al. 2007; Pilz and Casteel 2003). Par ailleurs, le NO peut favoriser la S-nitrosylation du RyR2, mais aussi les composants de signalisation des récepteurs couplés aux protéines G (GPCR) du myocarde (GPCR kinases [GRK] et les β -arrestines) (Kayki-Mutlu et Koch, 2021).

En revanche, les résultats des différentes études s'intéressant au rôle d'une dysfonction du NO dans la dysfonction diastolique sont controversés. Paulus et collaborateurs ont suggéré dans leur paradigme qu'un défaut de la voie du NO/GCs/GMPc dans les microvaisseaux coronaires était un acteur du développement de la dysfonction diastolique (Walter J. Paulus and Tschöpe 2013). Cependant, bien qu'il ait été mis en évidence dans 2 études que les souris déficientes en NOS3 présentent une

dysfonction diastolique (Vignon-Zellweger et al. 2011; 2014), d'autres études n'ont pas permis de confirmer ces résultats (Tsutsui et al. 2015; Ebner et al. 2017). En outre, les thérapies ciblant cette voie de signalisation ont été jusqu'à présent un échec (Borlaug et al. 2018; Redfield et al. 2015).

b. Libération d'autres médiateurs

L'Endothéline-1 (EDN1), la Neureguline-1 (NRG-1) et l'Apeline (APLN) sont proposés comme agissant de manière paracrine sur les cardiomyocytes et pouvant modifier leur phénotype (hypertrophie, inotropisme). Cependant, les données concernant une origine endothéliale des effets de ces trois molécules sont controversées.

Il a été mis en évidence que l'EDN1 en plus de ses effets vasoconstricteurs peut moduler l'hypertrophie (Hasegawa et al. 1996; Shubeita et al. 1990; Ito et al. 1991), la contractilité (J. R. Hu, Von Harsdorf, and Lang 1988) et le chronotropisme des cardiomyocytes (Concas et al. 1989). En outre, plusieurs études montrent une augmentation d'EDN1 chez les patients atteints d'ICFEP (Mohammed et al. 2015; Bevan et al. 2021). Cependant, la synthèse de l'EDN1 est également réalisée par le cardiomyocyte (Giaid et al. 1995) et serait responsable des effets hypertrophiques (S et al. 2014; Shohet et al. 2004).

Les taux circulants de NRG-1 sont diminués entre les patients atteints d'ICFEP par rapport aux individus sains (Hage et al. 2020). Il a été démontré, dans différents modèles murins d'IC, que la NRG-1 sécrétée par les CE vasculaires et endocardiques pouvait permettre de favoriser la survie et l'hypertrophie des cardiomyocytes (Y. Y. Zhao et al. 1998; Xifu Liu et al. 2006). Ces effets sur le cardiomyocyte étaient proposés comme dépendant des récepteurs Erb-B2 Tyrosine Kinase 2 (ERBB2) et Erb-B2 Tyrosine Kinase 4 (ERBB4). En revanche, des études plus récentes de délétion d'ERBB2 dans les cardiomyocytes (Ozcelik et al. 2002) et d'ERBB4 dans les CE (Dugaucquier et al. 2020) suggèrent que les effets cardiomyocytaires seraient plutôt liés à une signalisation autocrine dans les CE.

L'Apeline (APLN) est un important régulateur paracrine de la physiopathologie cardiovasculaire et agit en se liant à son récepteur GPCR, l'Apeline (APLNR). Elle est sécrétée par les CE vasculaires et endocardiques et agit sur les CML et les cardiomyocytes (Kleinz, Skepper, and Davenport 2005). Il a été démontré des effets bénéfiques de l'APLN sur l'inotropisme (augmentation de la sensibilité des myofilaments au Ca^{2+}) (Szokodi et al. 2002; Farkasfalvi et al. 2007) et l'hypertrophie des cardiomyocytes (Scimia et al. 2012a). En revanche, les KO constitutifs (Scimia et al. 2012b) et spécifiques des cardiomyocytes (Parikh et al. 2018) ont eu des effets opposés à ces résultats et ont permis de protéger la survenue de l'hypertrophie. Il est proposé que ces effets sont liés à l'activation de l'APLNR cardiomyocytaire en réponse à l'étirement mécanique, puisque l'hypertrophie est exacerbée après un KO endothélial spécifique de ce récepteur (Parikh et al. 2018).

Les conclusions obtenues des études précédentes remettent en cause un défaut de signalisation paracrine de la CE vers le cardiomyocyte. **Les effets du NO et des trois molécules sur le phénotype du cardiomyocyte semblent être plutôt liés à une signalisation autocrine sur la CE elle-même (APLN et EDN-1) ou de leurs effets autocrines sur le cardiomyocyte (NRG-1 et NO).**

c. Signalisation Redox

Alors que de nombreuses études se sont concentrées sur la signalisation redox dans les cardiomyocytes (Burgoyne et al. 2012) ou dans les CE (Alom-Ruiz, Anilkumar, and Shah 2008), des preuves suggèrent qu'une communication redox entre ces types de cellules dans le cœur est également importante en modulant de nombreux processus. En outre, les ERO (espèces réactives de l'oxygène) peuvent promouvoir l'hypertrophie des cardiomyocytes (Dubois-Deruy et al. 2020). Alors qu'il est suggéré que les ERO sont principalement produites par les cardiomyocytes dans le cadre de l'ICFEr, elles peuvent être produites par les CE dans le cadre de l'ICFEp (Münzel et al. 2015).

La production d'ERO survient majoritairement après une suractivation des enzymes pro oxydantes NADPH oxydase (NOX), Xanthine oxydase, et un découplage de la eNOS (Min Zhang et al. 2013; Nishino et al. 2008; Carnicer et al. 2013). Les ERO impliquées dans la signalisation redox comprennent l'anion superoxyde (O_2^-), l'hydroxyle (OH) et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), et le peroxyde d'azote ($ONOO^-$). Dans le cœur, les ERO peuvent activer la CAMKII, ce qui entraîne un couplage excitation-contraction. En outre, ils peuvent promouvoir l'hypertrophie des cardiomyocytes (Dubois-Deruy et al. 2020).

La NOS3 en produisant le NO est une enzyme essentielle au tonus vasculaire. Le découplage de NOS3 survient à la suite d'une disponibilité insuffisante de substrat (L-arginine), de tétrahydrobioptérine (BH4). La carence en l'un de ces composants induit un déplacement des électrons vers le dioxygène (O_2) et la production de superoxyde au détriment du NO. En outre, les faibles niveaux de NO vont agir avec le superoxyde pour former du peroxyde d'azote. Il semblerait que la majorité des espèces réactives de l'oxygène soient produites par les NOS1 et NOS2. Cependant, il a été démontré que le découplage de la NOS3 et la génération d'ERO contribuent à l'hypertrophie après constriction aortique transversale chronique (Takimoto et al. 2005) et dans la cardiomyopathie dilatée (Mollnau et al. 2005). Enfin, la production de peroxyde d'hydrogène dans le myocarde peut moduler à la fois l'activité de la NOS3 et l'inotropisme (Sartoretto et al. 2011).

Une augmentation de l'activité et de l'expression de la xanthine oxydase génératrice de superoxyde et de peroxyde d'hydrogène était décrite dans le myocarde (CE coronaires et cardiomyocytes) et l'inhibition de la xanthine oxydase semble améliorer le dysfonctionnement endothélial coronaire et la contractilité myocardique chez les patients souffrant d'IC (Baldus et al. 2006).

Les protéines NOX, sont l'une des sources majeures d'ERO dans le système cardiovasculaire. Ce sont les seules enzymes dont le but premier est la génération d'ERO de manière hautement régulée et

spatialement restreinte en tant que médiateurs de signalisation. Les isoformes NOX2 et NOX4 prédominent dans les cardiomyocytes et les CE. Elles présentent des différences distinctes en ce qui concerne leur structure, leur activation, leur fonction, leur localisation intracellulaire et le type d'ERO généré (Lambeth 2004). La NOX2 est principalement activée par des médiateurs inflammatoires (Ang II, ET-1, hyperglycémie, TNF α) et forces mécaniques et génère du superoxyde. Il a été mis en évidence par Murdoch et collaborateurs qu'une surexpression de la NOX2 endothéliale était capable d'exacerber la dysfonction diastolique induite par l'Ang II (perte de compliance du VG et augmentation de pression télédiastolique) en augmentant la fibrose et l'inflammation (Murdoch et al. 2014). En revanche, la NOX4 est active de manière constitutive et génère du peroxyde d'hydrogène (Takac et al. 2011) qui contrairement au superoxyde peut augmenter l'activité de la NOS3 (Boulden et al. 2006). La surexpression endothéliale de NOX4 augmente le débit cardiaque à la fois dans des conditions physiologiques et sous perfusion d'Ang II (Minshu Wang et al. 2021).

3. Modification du microenvironnement cardiomyocytaire

La perte des fonctions de la CE peut entraîner une modification du microenvironnement des cardiomyocytes par l'intermédiaire d'un œdème, d'une fibrose et/ou d'une inflammation (figure 34).

a. Perméabilité et œdème

L'homéostasie du liquide myocardique est déterminée par l'équilibre entre le taux de filtration du liquide par les capillaires coronaire vers l'interstitium et le taux d'élimination lymphatique du liquide de l'interstitium (Dongaonkar et al. 2010). La perte de fonction de barrière semi-perméable sélective des CE vasculaires capillaires peut entraîner la formation d'un œdème perturbant les contacts cellule-cellule, l'élasticité de la paroi cardiaque et/ou comprimer les capillaires cardiaques (figure 34). L'accumulation de liquide (2 %) et l'augmentation de la pression interstitielle cardiaque peuvent induire un raidissement de la paroi cardiaque et nuire à la relaxation cardiaque (Pogátsa, Dubecz, and Gábor 1976). En outre, elle altère le métabolisme aérobie en augmentant la distance de diffusion de l'oxygène entre les capillaires et les myocytes (Rubboli, Sobotka, and Euler 1994) alors que les besoins énergétiques sont accrus en présence d'œdème (Kahles et al. 1982). La perte d'efficacité énergétique du myocarde a également des conséquences néfastes sur la contractilité et la relaxation (Vasques-Nóvoa et al. 2022). Dans un modèle murin surexprimant l'ubiquitine PDZRN3 (PDZ Domain Containing Ring Finger 3) dans les CE, la seule présence d'une perméabilité microvasculaire et d'un œdème cardiaque liée à une déstabilisation des jonctions serrées a été suffisante afin d'induire une dysfonction diastolique (Abelanet et al. 2022b). L'œdème myocardique est retrouvé dans plus de la moitié des patients atteints d'ICFEP (Fischer et al. 2022).

b. Fibrose

Les CE peuvent accroître la rigidité myocardique en stimulant l'activation des fibroblastes en myofibroblastes et en favorisant l'accumulation pathologique de MEC (figure 34).

Les CE sécrètent des facteurs profibrotiques tels TGF β 1, le CTGF (connective tissue growth factor) et l'EDN1 (X. Sun et al. 2020). Dans ce contexte, Zhang et collaborateurs ont mis en évidence qu'en condition d'IC hyperglycémique les exosomes dérivés de CE microvasculaires cardiaques favorisaient l'activation des fibroblastes par l'intermédiaire de TGF- β 1 (Yan Zhang et al. 2021). Ces résultats sont en accord avec ceux de Widyantoro et collaborateurs dans lesquels le KO spécifique d'EDN1 dans les CE a permis de prévenir l'expression de TGF- β 1, et la fibrose dans un modèle murin de diabète (Widyantoro et al. 2010).

Il est également proposé que les CE participent aux processus de fibrose au travers la transition endothélio-mésenchymateuse (EndoMT). Cette dernière peut être induite par de nombreux facteurs, dont le TGF β 1, l'EDN1, l'hypoxie et la perturbation du flux sanguin (X. Sun et al. 2020).

c. Inflammation

La dysfonction endothéliale et plus particulièrement la présence d'un endothélium proadhésif est capable d'induire des répercussions sur le phénotype des cardiomyocytes à différents niveaux, notamment par la sécrétion de médiateurs inflammatoires dans le microenvironnement par les CE (Nilsen et al. 1998) et les leucocytes infiltrés (figure 34).

En effet, il a été démontré dans des modèles murins d'IC par constriction aortique que la perte d'ICAM-1 (Salvador et al. 2016) et du TCR α (T cell receptor α) (Nevers et al. 2015) ont permis de diminuer le recrutement et l'infiltration leucocytaire cardiaque et d'améliorer les fonctions diastoliques et systoliques.

En outre, les macrophages infiltrés et les neutrophiles, au travers de la sécrétion d'IL-10 et la formation de Neutrophil extracellular Traps (NETs), favorisent le développement d'une dysfonction diastolique dans un modèle murin d'hypertension SAUNA (uninéphrectomie, aldostérone, eau salée) (Hulsmans et al. 2018; N. Zhang et al. 2022; Xin-Lin Zhang et al. 2022). Enfin, dans un modèle de souris diabétiques et obèses Lerp^{db/db}, il a été démontré que la libération d'histamine par les mastocytes participe également au développement de la dysfonction diastolique (Guimbal et al. 2021).

L'augmentation de l'IL-6 a été associée au développement (Chia et al. 2021) et au mauvais pronostic de l'ICFEp (Mooney et al. 2023). Le KO de l'IL-6 dans un modèle murin a permis d'atténuer le remodelage hypertrophique et fibrotique du VG induit par surcharge de pression (L. Zhao et al. 2016) et Ang II (G. E. González et al. 2015). Il est proposé que l'hypertrophie est induite par les effets de l'IL-6 sécrété par les CE sur la voie de signalisation RAS/ERK (Yin et al. 2017). Une exposition prolongée à l'IL-6 diminue

la contractilité cardiaque par le biais d'une synthèse de novo accrue et d'une activation de l'iNOS (NOS2) indépendante du Ca^{2+} et dépendante de la voie JAK2/STAT3 des cardiomyocytes (X. Yu, Kennedy, and Liu 2003).

En plus de l'IL-6, des taux accrus en TNF α , IL-1 β et IL-18 sont observés chez les patients atteints d'IC (Mann 2002). Dans un modèle murin de constriction de l'aorte descendante, la déplétion de TNF α a atténué l'apoptose cardiaque, l'hypertrophie cardiomyocytaire, la réponse inflammatoire et la fibrose (M. Sun et al. 2007). In vitro (Harada et al. 1999) et in vivo (Isoda et al. 2001), il a été démontré un effet des cytokines IL-1 sur l'hypertrophie et un effet sur la contractilité des cardiomyocytes (Panas et al. 1998) similaire à celui observé pour l'IL-6.

Enfin, in vivo et in vitro, l'exposition chronique à l'IL-18 a un effet pro-hypertrophique et inotrope négatif délétère sur la fonction diastolique (augmentation de la pression télédiastolique) (Woldbaek et al. 2005). Il a été démontré in vivo dans des modèles d'IC par surcharge de pression que l'IL-8 provoque un remodelage fibrotique délétère pour la fonction diastolique en augmentant l'expression d'ostéopontine des fibroblastes (Q. Yu et al. 2009).

Ces médiateurs pro-inflammatoires peuvent être produits par les cellules immunitaires, mais aussi par d'autres types de cellules, y compris les CE. Il semble donc difficile de relier leurs effets sur le phénotype des cardiomyocytes (contractilité, apoptose, hypertrophie) et le microenvironnement (inflammation, fibrose) à un type cellulaire particulier.

d. Conclusion

Les CE vasculaires pourraient assurer l'homéostasie des cardiomyocytes adjacents par l'intermédiaire de leur fonction de barrière endothéliale, leur fonction paracrine et le contrôle du microenvironnement inflammatoire et fibrotique. La perturbation d'une de ces fonctions pourrait conduire à une rupture de l'homéostasie des cardiomyocytes adjacents et être responsable de la survenue d'une hypertrophie ou d'un défaut de contractilité et de relaxation (*figure 35*). En revanche, cette association et le rôle des CE sur les cardiomyocytes n'ont pas encore été démontrés dans l'ICFep. De plus, les effets de certains médiateurs paracrines sur les cardiomyocytes sont controversés dans les études. Le ciblage de la voie du NO endothélial semblait être une cible thérapeutique prometteuse. Cependant, certaines études précliniques ont été incapables de relier un défaut endothélial avec une modification du phénotype des cardiomyocytes et les essais cliniques visant à améliorer la biodisponibilité du NO ont jusqu'à présent été un échec chez les patients (Borlaug et al. 2018; Redfield et al. 2015). À ce jour, aucun lien n'a été encore formellement établi entre la dysfonction endothéliale microvasculaire et la dysfonction diastolique.

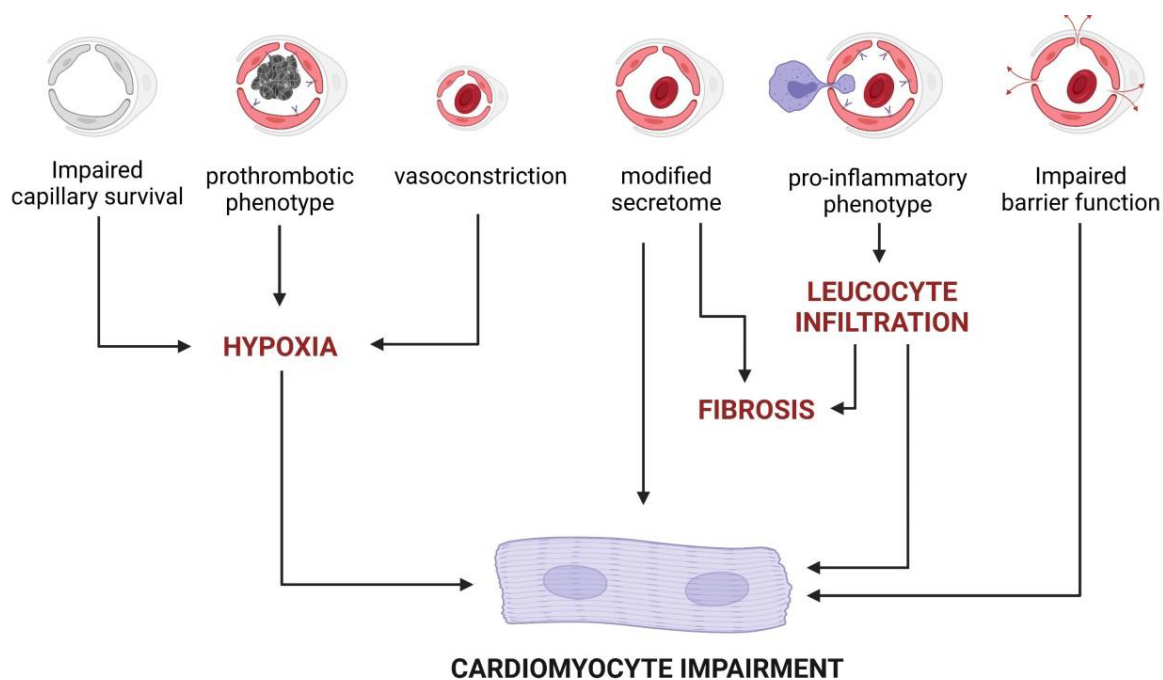


Figure 35 : Mécanismes expliquant le lien entre la dysfonction endothéliale et la modification du phénotype des cardiomyocytes (Cornuault et al. 2022)

b) Preuves expérimentales du rôle de la dysfonction endothéliale dans la survenue de la dysfonction diastolique

Comme nous l'avons vu précédemment, il n'existe encore aucune preuve établissant l'implication de la dysfonction endothéliale dans l'ICFp. Dans cette optique, plusieurs études précliniques ([tableau 7](#)) ont cherché à évaluer les conséquences d'une modification des propriétés des CE sur le phénotype des cardiomyocytes et la fonction diastolique. Nous allons nous intéresser plus particulièrement aux délétions de la sirtuine 3 et 1, et aux surexpressions du récepteur adrénergique bêta-3 (ADRB3) et de l'ubiquitine ligase PDZRN3 dans les CE, associées à une altération de la fonction diastolique.

Modèle	Promoteur	Age/sexes des souris	Mécanisme	Propriétés cardiaques modifiées
Sirt3 ECKO (X. He et al. 2017)	CDH5	12 mois Souris ♂	↘ Densité capillaire ↘ Glycolyse ↗ ROS	↘ CFR ↗ IVRT ↗ MPI
Sirt3 ECKO (Zeng, He, and Chen 2020)	CDH5	10 semaines Souris ♀		↘ E'/A » ↗ IVRT ↗ MPI
Sirt1 ECKO (Maizel et al. 2014a)	Tie2f	30 à 40 semaines Souris ♂ et ♀	↘ Densité capillaire ↔ HIF1A ↔ Fibrose	↗ IVRT ↗ MPI ↘ ATP2A2
CE Tg (ADRB3) (Dhot et al. 2020)	ICAM-2	45 semaines Rats ♂	↗ ROS (O ₂ ⁻) ↗ NO ↘ NOS3 ↗ NOS1 & NOS2	↗ E/A ↗ Dilatation auriculaire gauche ↗ EDP ↘ Contractilité (sous stress)
CE Tg (PDZRN3) (Abelanet et al. 2022)	CDH5	12 semaines Souris ♂ et ♀ (8 semaines post-tamoxifène)	↗ Perméabilité ↔ Densité capillaire ↔ inflammation ↔ Fibrose	↗ EDP ↗ Peptides natriurétiques ↗ dP/dt min

Tableau 7 : Modèles rongeurs avec cellules endothéliales modifiées induisant une dysfonction diastolique

Les sirtuines 1 (SIRT1) et 3 (SIRT3) appartiennent à la famille d'enzymes dépendantes de la nicotinamide adénine dinucléotide (NAD⁺) qui catalysent la désacétylation des résidus lysine histones et non-histones (Potente and Dimmeler 2008). La SIRT1 est principalement nucléaire et désacétyle de nombreux facteurs de transcription qui contrôlent le métabolisme oxydatif ou glycolytique des CE (Rodgers et al. 2005). La SIRT1 a également été rapporté comme pouvant moduler le stress oxydant et le tonus vasculaire et l'angiogenèse. La SIRT3 quant à elle est mitochondriale et joue un rôle important dans l'homéostasie énergétique et le stress oxydant (X. He, Zeng, and Chen 2019). Ces enzymes présentent un intérêt particulier d'un point de vue clinique puisque leur expression est diminuée chez les patients atteints d'ICFep (Carbone et al. 2023; Conti et al. 2020).

Il a été démontré qu'une perte d'expression endothéliale des SIRT1 et SIRT3 est capable d'induire la survenue d'une dysfonction diastolique (augmentation de l'IVRT et/ou le rapport

E/e »)(Maizel et al. 2014b; X. He et al. 2017) (*tableau 7*). Cette dysfonction cardiaque s'explique au niveau des cardiomyocytes par une diminution de la SERCA2a chez les souris *Sirt1*^{ECKO}. Une diminution de la densité des capillaires cardiaques et de la réserve coronaire sont observées dans les deux modèles (*Sirt3*^{ECKO} et *Sirt1*^{ECKO}) et une fibrose périvasculaire est observée seulement chez les *Sirt3*^{ECKO}. Dans les CE de ces dernières, l'activité glycolytique est altérée et la production de ROS est accrue pouvant contribuer à altérer le phénotype cardiomyocytaire. Il semble qu'il existe un dimorphisme sexuel dans ce modèle puisque contrairement aux mâles, les souris *Sirt3*^{ECKO} femelles développent un phénotype plus grave et une hypertrophie (Zeng, He, and Chen 2020).

La production de NO endothélial est principalement due à l'activation Gαi-NO-cGMP et cette voie est couplée à l'expression et à l'activité des récepteurs β3-adrénergiques (ADRB3) (Gauthier et al. 1998). Dans cette optique, Dhot et collaborateurs ont surexprimé ADRB3 dans les CE de rats (Dhot et al. 2020). Les rats âgés de 45 semaines ont une dysfonction diastolique (augmentation de pression télédiastolique et E/A) (*tableau 7*). La perturbation du phénotype des cardiomyocytes dans ce modèle est liée à une augmentation de la fibrose modifiant le microenvironnement et à l'augmentation des ROS. Contrairement aux souris *Sirt3*^{ECKO}, seuls les mâles surexprimant ADRB3 ont développé une dysfonction diastolique dans ce modèle.

Il s'agit d'une cible potentiellement intéressante car un agoniste sélectif des adréno-récepteurs β3 adrénergiques (Mirabegron) a montré des effets bénéfiques dans un sous-groupe de patients atteints d'ICFep avec hypertension pulmonaire (García-Álvarez et al. 2023).

L'E3 ubiquitine ligase, PDZRN3 (ubiquitine ligase PDZ Domain Containing Ring Finger 3), favorise la voie non canonique de Wnt dans les CE (Sewduth et al. 2014) et régule la stabilisation des jonctions serrées (Sewduth et al. 2017). En revanche, les souris surexprimant PDZRN3 développent une dysfonction diastolique (augmentation de pression télédiastolique et du dP/dt min) et une augmentation des niveaux de peptides natriurétiques (*tableau 7*). Dans ce modèle la modification du phénotype des cardiomyocytes est liée à une perméabilité microvasculaire accrue et un œdème cardiaque. En revanche, aucune inflammation, fibrose ou une hypertrophie cardiaque n'est observée (Abelanet et al. 2022b).

D'après les données précédentes, la perte de certaines propriétés spécifiques aux CE est capable de modifier le phénotype des cardiomyocytes par l'intermédiaire d'une modification du micro-environnement (fibrose, perméabilité, inflammation) et de la fonction paracrine (stress oxydant) pour induire une dysfonction diastolique. Enfin, il a été démontré qu'une modification des propriétés des CE la perte de Forkhead box transcription factor P1 (Foxp1) ou la surexpression de NOX2 exacerbe la dysfonction diastolique induite par l'Ang II (augmentation de E/e' ou diminution du volume diastolique final, augmentation de la pression télédiastolique) (J. Liu et al. 2019; Murdoch et al. 2014). La surexpression de la NOX2 a entraîné des répercussions sur les cardiomyocytes en modifiant leur microenvironnement par l'augmentation de l'infiltrat leucocytaire et de la fibrose. Les effets de la perte de Foxp1 sont liés à une raréfaction capillaire favorisant une hypoxie.

Ainsi, la modification des propriétés des CE a permis expérimentalement de confirmer comme suggéré par Paulus un lien entre dysfonction endothéliale microvasculaire et dysfonction diastolique. Certains des gènes utilisés afin de modifier les propriétés des CE et induire une dysfonction diastolique, sont également modulés de la même manière chez les patients atteints d'ICFEP tels que NOX2 (Franssen et al. 2016a) et SIRT1 (Carbone et al. 2023). En revanche, selon les modèles, expérimentaux les effets rapportés comme pouvant être responsable de l'atteinte cardiaque sont différents et l'étude de la fonction du cardiomyocyte et des microvaisseaux n'est pas toujours réalisée. Il semble nécessaire de prendre en compte les limites des modèles de dysfonction endothéliale pour identifier le rôle exact des CE et de la dysfonction microvasculaire dans la physiopathologie de l'ICFEP.

5) Associations entre thrombose et facteurs de risque de l'ICFEP

Des données suggèrent que les différents facteurs de risques associés à l'ICFEP et à la dysfonction endothéliale peuvent présenter un phénotype pro thrombotique. Ces associations sont faites entre les vaisseaux de différents calibres et ne se concentrent pas nécessairement sur la microcirculation coronaire. Ce phénotype pro thrombotique en fonction des différents facteurs risques est associé à une perte de contrôle de l'hémostase par l'endothélium, une hyperactivation plaquettaire et une augmentation de la coagulation plasmatique.

Classiquement, on distingue deux types de thromboses : **les thromboses veineuses et artérielles**. Les causes de ces deux types de thrombose sont différentes, du fait des mécanismes les déclenchant, de leur localisation et des facteurs de risques (*figure 36*).

— La physiopathologie de la thrombose artérielle repose principalement sur les interactions plaquettes-paroi vasculaires, avec un rôle majeur des lésions pariétales induites par l'athérome et le vieillissement vasculaire et les caillots sont pauvres en fibrine et riches en plaquettes. Les principaux facteurs de risques liés à ce type de thrombose sont l'HTA, le DT2, le tabac, la FA et l'hypercholestérolémie (Previtali et al. 2011; K. A. Tanaka, Key, and Levy 2009). Les complications induites par le développement d'un thrombus artériel sont l'infarctus du myocarde, l'AVC et l'embolie (Reiner, Siscovick, and Rosendaal 2001).

— La thrombose veineuse est une maladie multifactorielle dans laquelle une altération de la triade de Virchow telle qu'une stase, une activation endothéliale et une hypercoagulation intervient. Les caillots sont majoritairement riches en fibrine et pauvres en plaquettes. Les principaux facteurs de risques prédisposant à cette condition sont l'obésité, le DT2, le tabagisme et l'âge (Previtali et al. 2011; K. A. Tanaka, Key, and Levy 2009). Les deux complications majeures survenant à la suite d'une thrombose veineuse sont la thrombose veineuse profonde et l'embolie pulmonaire.

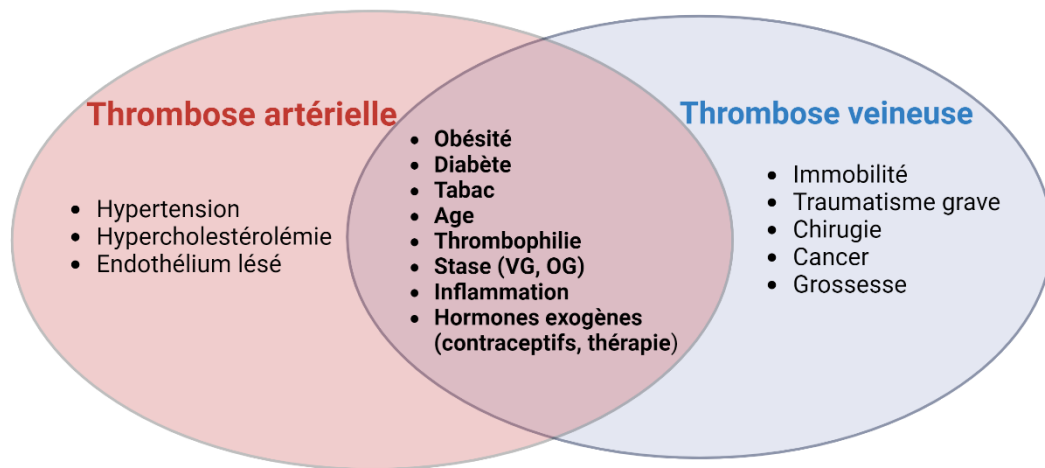


Figure 36 : Facteurs de risques aux thromboses veineuses et artérielles
Adapté de S. S. Anand 2017

Les thromboses veineuses et artérielles partagent des facteurs de risques communs entre elles (HTA, diabète, l'obésité, FA et vieillissement) et avec l'ICFEP (S. S. Anand 2017) (figure 36). Il existe dans la littérature quelques preuves associant un phénotype pro thrombotique aux principaux facteurs risques de l'ICFEP (tableau 8).

Facteurs de risque de l'ICFEP	Modulation de l'hémostase primaire et de la coagulation	Modulation de la fibrinolyse	Modulation de l'activation plaquettaire	Autre
DT2	<ul style="list-style-type: none"> ↗ FGN ↗ vWF ↗ FT ↗ FVII 	<ul style="list-style-type: none"> ↗ PAI-1 Glycation du FGN 	<ul style="list-style-type: none"> ↗ MDPs ↗ Prothrombine ↗ Thrombine ↗ sCD40L 	<ul style="list-style-type: none"> ↗ Agrégation plaquettaire ↗ FT monocytaire
Obésité	<ul style="list-style-type: none"> ↗ FGN ↗ vWF ↗ FT ↗ FVII 	<ul style="list-style-type: none"> ↗ PAI-1 adipocytaire Anomalie t-PA 	<ul style="list-style-type: none"> ↗ MDPs ↗ sCD40L 	Dysfonction plaquettaire NO dépendante

HTA	↗ vWF	↗ PAI-1 (AT1 dépendante)	↗ CD62P ↗ CD63 ↗ PAC-1 ↗ Annexine V ↗ TbxA2	NC
FA	↗ FVIII:C ↗ FGN ↗ vWF ↘ TFPI ↘ Thrombomoduline	↗ D-dimères ↗ PAI-1	↗ PF4 ↗ sCD40L ↗ P-sélectine ↗ β-TG ↗ Prothrombine	NC
Age	↗ FGN ↗ vWF ↗ FVII ↗ FVIII ↗ FIX ↗ FXII expression & ↘ activité ↗ FXIII ↗ TAT	↗ PAI-1 ↗ Fibrine ↗ D-dimères ↗ TAFI (femmes)	↗ Prothrombine ↗ PF4 ↗ β-TG	Dysfonction plaquettaire NO dépendante ↗ Agrégats monocytes-plaquettes

Tableau 8 : Modulation de l'hémostase dans les facteurs de risque associés à l'ICFep

a) HTA

L'hypertension artérielle systolique a été associée à un risque important d'AVC et de thromboembolie veineuse (Davis et al. 1998; Perry et al. 2000; Holst, Jensen, and Prescott 2010), puis nuancée par la suite (Mahmoodi et al. 2017; Wattanakit et al. 2012; MacDonald et al. 2021). Dans l'HTA, il est proposé que l'interaction des systèmes rénine-angiotensine et kallikréine-kinine (voie intrinsèque de coagulation plasmatique) est responsable d'événements thrombotiques (Poli et al. 2000) (*tableau 8*).

1. Modulation de l'hémostase primaire

Des taux élevés en vWF ont été associés au pronostic évolutif des maladies cardiovasculaires chez les patients avec HTA (Blann and Waite 1996). Cependant, cette association n'est pas toujours retrouvée, ce qui peut en partie être expliqué par de plus faibles valeurs de pressions artérielles systoliques dans certaines cohortes (G. Y. H. Lip and Blann 2000; Poli et al. 2000).

Les patients hypertendus présentent également des niveaux élevés en marqueurs d'activation plaquettaire (CD62P, CD63, PAC-1, annexine V, thromboxane A2) (Nomura, Kanazawa, and Fukuhara 2002; P. J. Levy et al. 2000; P. Li, Ferrario, and Brosnihan 1998).

2. Modulation de la coagulation plasmatique

L'expression du FT est augmentée dans le cadre d'une HTA et elle est diminuée par un traitement antihypertenseur (Felmeden et al. 2003; Alessandro Celi et al. 2010).

3. Modulation de la fibrinolyse

Chez les patients hypertendus, une augmentation de la synthèse endothéliale de PAI-1 induite par les effets de l'Ang II sur le récepteur AT1 est observée (Jansson et al. 1991; Dielis et al. 2005; P. Li, Ferrario, and Brosnihan 1998; G. Y. H. Lip and Blann 2000) et associée au pronostic des événements cardiovasculaires (Poli et al. 2000). Il a été démontré qu'un inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine diminue l'activité et la synthèse de cet inhibiteur du plasminogène (Vaughan et al. 2017), et favorise la libération endothéliale de t-PA (Pretorius et al. 2003).

b) Le diabète de type 2

Les patients atteints de DT2 ont un risque accru d'événements thrombotiques artériels et veineux (Tsai et al. 2002; Alzahrani and Ajjan 2010; Grant 2005; Movahed, Hashemzadeh, and Jamal 2005; Bai et al. 2015). L'hyperglycémie est associée à la survenue d'événements thrombotiques (Lemkes et al. 2010; Hermanides et al. 2009). Elle s'accompagne fréquemment d'une hyperinsulinémie, d'une dyslipidémie, d'une hypertension et d'une obésité. Il est donc difficile de relier les effets sur l'hémostase à l'un de ces éléments en particulier (Fattah, Shaheen, and Mahfouz 2003) (*tableau 8*).

1. Modulation de l'hémostase primaire

Chez les diabétiques, l'hyperglycémie modifie les propriétés antithrombotiques de l'endothélium en altérant la structure du glycocalyx et la synthèse du NO et de la prostacycline (Schneider 2009). Chez ces patients des taux élevés en vWF ont été associés à un risque de complications cardiovasculaires (Frankel et al. 2008; Meigs et al. 2006). Ils présentent également d'importants taux de fibrinogènes (FGN) plasmatiques (Streja, Cressey, and Rabkin 2003; Barazzoni et al. 2000) induits de manière multifactorielle (concentrations en glucagon, résistance à l'insuline, inflammation) (Alzahrani and Ajjan 2010; Kado, Nagase, and Nagata 1999). Il est proposé que cette augmentation peut être antérieure à l'apparition d'une maladie cardiovasculaire chez les DT2 (Barazzoni et al. 2000).

Des taux élevés de marqueurs d'activation plaquettaire participent à l'augmentation du risque d'événements cardiovasculaires chez ces patients diabétiques (Gresele et al. 2003; Vinik et al. 2001; Marx et al. 2003; Varo et al. 2005) (*tableau 8*). En effet, en réponse à l'hyperglycémie et l'hyperinsulinémie, il a été observé une augmentation des particules dérivées des plaquettes (MDP) (S. Li et al. 2016; Xuguang Zhang et al. 2014), du ligand CD40 soluble (sCD40L) (Vaidyula et al. 2006; Varo et al. 2005), et de la P-sélectine (Füth et al. 2009; Yngen et al. 2001).

2. Modulation de la coagulation plasmatique

Chez les patients atteints de DT2, des anomalies de coagulations plasmatiques sont également observées (*tableau 8*). En effet, la présence d'une inflammation de bas grade, de produits de glycation avancés, d'ERO et les effets additifs des niveaux d'insuline de glycémie stimuleraient l'expression du FT (Breitenstein, Tanner, and Lüscher 2010; Vaidyula et al. 2006; Boden et al. 2007).

En outre, des taux importants en FVII plasmatique sont fréquemment corrélés aux taux de triglycérides (Karatela and Sainani 2009). Cette augmentation peut être inversée par mesures diététiques ou pharmacologiques ciblant les triglycérides et la glycémie (Boden et al. 2007; Simpson et al. 1983).

En accord avec les observations précédentes, la génération de thrombine (Aoki et al. 1996; Z. Cohen et al. 2002) et la formation de complexes thrombine-antithrombine (Stegenga et al. 2006) sont augmentées chez les patients atteints de DT2 par rapport aux individus sains.

3. Modulation de la fibrinolyse

Les propriétés du FGN sont également modifiées par la glycation (Dunn, Ariens, and Grant 2005; P. W. Robinson, Jury, and Langdon 1991) et altèrent la lyse du caillot chez les patients diabétiques en rendant ces derniers plus denses et moins perméables (Brownlee, Vlassara, and Cerami 1983; Pieters et al. 2008; P. W. Robinson, Jury, and Langdon 1991).

Les patients DT2 présentent également une hypofibrinolyse associée à l'augmentation proportionnelle de l'expression du PAI-1 en réponse aux élévations d'insuline (Festa et al. 1999) et de glycémie (chronique ou aiguë) (Nordt et al. 1993; Verkleij et al. 2011) (*Tableau 8*). D'une manière générale, des taux plasmatiques élevés en PAI-1 sont associés à un mauvais pronostic cardiovasculaire (Jung et al. 2018).

4. Traitements antidiabétiques et thrombose

Les études précédentes ont démontré un effet indépendant, mais également additif de l'hyperinsulinémie et de l'hyperglycémie sur les risques thrombotiques (Boden et al. 2007; Vaidyula et al. 2006). Le bénéfice thérapeutique des agents hypoglycémisants et hypolipidémisants est également associé à leurs effets bénéfiques sur la régulation de l'hémostase dans le DT2 (Nusca et al. 2021; Alzahrani and Ajjan 2010) (*tableau 9*).

Classe thérapeutique	Traitement	Facteurs d'hémostase modulés
Hypoglycémiant	Metformine	<ul style="list-style-type: none"> • ↘ FVII • ↘ FGN • ↘ Activation plaquettaire • ↘ PAI-1
	Thiazolidinediones	<ul style="list-style-type: none"> • ↘ vWF • ↘ PAI-1 • ↘ sCD40L • ↘ P-sélectine
	Analogues GLP-1	<ul style="list-style-type: none"> • ↘ PAI-1
	Insuline	<ul style="list-style-type: none"> • ↗ PAI-1 • ↗ FGN
Hypolipidémiant	Statines	<ul style="list-style-type: none"> • ↘ FVII • ↘ TF • ↘ PAI-1 • ↗ Thrombomoduline
	Fibrates	<ul style="list-style-type: none"> • ↘ FGN • ↘ FVII • ↘ TF monocytaire
Antiagrégants	Aspirine	<ul style="list-style-type: none"> • ↘ TbxA2 • ↗ Acétylation FGN (↗ Fibrinolyse)
	Inhibiteurs P2Y12	<ul style="list-style-type: none"> • ↘ FGN

Tableau 9 : Traitements antidiabétiques et hémostase

Adapté de Alzahrani and Ajjan 2010

c) Obésité

Les personnes obèses présentent un risque accru d'événements thrombotiques artériels et veineux jusqu'à 2,5 fois supérieur aux individus avec un IMC sain (Samad and Ruf 2013a; Eichinger et al. 2008; Stein, Beemath, and Olson 2005). Il existe une association entre l'incidence d'événements thrombotiques, l'obésité abdominale et l'épaisseur de graisse épigardique (Mazzocoli et al. 2012).

1. Modulation de l'hémostase primaire

Les individus obèses ont des concentrations plasmatiques plus élevées en FGN et en vWF (De Pergola et al. 1997; De Pergola and Pannacciulli 2002; Paton 2013). Une perte de poids chirurgicale ou diététique permet de réguler les niveaux de FGN chez ses patients (Solá et al. 2007; Gallistl et al. 2001; Primrose et al. 1992).

Le tissu adipeux de ces individus est pro inflammatoire et pro adhésif (TNF- α , IL-6, TGF- β 1, ICAM-1 soluble [sICAM-1], MCP-1 [protéine chimiotactique monocyte-1] et E-sélectine) (Weisberg et al. 2003; Miller and Cappuccio 2006; Nishimura et al. 2008). Ces propriétés seraient en partie le résultat de l'augmentation de l'expression du FGN et des dépôts de fibrine (Paton 2013) et pourraient favoriser l'interaction leucocyte/CE/plaquette dans la microcirculation du tissu adipeux viscéral (Nishimura et al. 2008).

L'obésité induit une hyperactivation et une dysfonction plaquettaire liées à la perte des effets antiagrégants endothéliaux du NO, de la prostacycline et de leurs effecteurs (GMPc et AMPc) (Russo et al. 2010; Basili et al. 2006). La perte de poids s'avère avoir des effets bénéfiques sur l'activation plaquettaire en abaissant les taux de microparticules dérivés de plaquettes (MDPs) et de sCD40L et permet également de restaurer la fonction plaquettaire (Murakami et al. 2007; Baena-Fustegueras et al. 2013; Russo et al. 2010).

2. Modulation de la coagulation plasmatique

Par rapport aux témoins non obèses, les individus obèses ont des concentrations plasmatiques plus élevées en FVII et FT initiateurs de la coagulation (*tableau 8*). Une perte de poids chirurgicale ou diététique a permis de diminuer l'expression de ces deux facteurs (Solá et al. 2007; Gallistl et al. 2001; Kopp et al. 2003; Primrose et al. 1992).

3. Modulation de la fibrinolyse

Chez les personnes atteintes d'obésité, une augmentation de PAI-1 et une altération fonctionnelle du facteur antithrombotique t-PA sont observés (De Pergola and Pannacciulli 2002) (*Tableau 8*). Ces niveaux élevés en PAI-1 proviennent de l'excès de graisse viscérale (Shimomura et al. 1996; Murakami et al. 2007; De Pergola et al. 1997), plus particulièrement des cellules stromales (Bastelica et al. 2002) et sont modulés par les adipokines (TNF- α , Ang II, IL-6 TGF- β) (Mutch, Wilson, and Booth 2001; Loskutoff, Fujisawa, and Samad 2000).

Il est possible d'établir un lien entre la perte de poids, la graisse viscérale et l'activité fibrinolytique, ou entre l'activité physique régulière et l'activité fibrinolytique. En effet, une activité physique régulière ou une perte de poids chirurgicale améliorent l'activité du t-PA (profibrinolytique) (DeSouza, Jones, and Seals 1998), diminuent l'activité et la synthèse du PAI-1 (Primrose et al. 1992; Murakami et al. 2007; Tschoner et al. 2012; Sartori et al. 2001) ainsi que les processus intervenant dans l'hémostase primaire.

d) Fibrillation atriale

Les traitements de la FA sont des modulateurs de la réponse ventriculaire et du rythme, et des antithrombotiques (Nattel and Opie 2006). **Il existe un lien étroit entre le risque d'événements thrombotiques et la FA** (Menke et al. 2010). Il s'agit du facteur de risque le plus fréquent d'AVC ischémiques graves chez les personnes âgées (>80 ans) avec une contribution d'environ 35 % des cas (Hald et al. 2018; H. J. Lin et al. 1996; Wolf et al. 1978; Menke et al. 2010). Le risque d'événements thrombotiques tels que des embolies pulmonaires avec une FA est également supérieur à la population générale (Hald et al. 2018).

1. Classification du risque thrombotique avec FA

La prévalence d'événements thrombotiques et notamment d'AVC est telle chez les patients avec FA qu'il existe des systèmes de classifications CHADS2 et CHA2DS2-VASc permettant d'évaluer leur risque ainsi que le bénéfice de traitements antithrombotiques (*tableau 10*). Les principaux facteurs aggravant le risque d'AVC avec une FA sont : l'âge, le sexe féminin, les antécédents d'AVC ou d'accident ischémique transitoire, l'HTA et le diabète.

Le score CHA₂DS₂-VASc (*tableau 10*) est le plus complet, car il inclut trois facteurs de risque supplémentaires rapport au score CHADS₂ : l'âge de 65 à 74 ans, le sexe féminin et la maladie vasculaire (infarctus du myocarde ou une maladie artérielle périphérique antérieure) (G. Y. H. Lip et al. 2010).

En fonction du risque qu'il représente, chacun des facteurs de risques est associé à un nombre de points. Étant donné que le danger AVC ischémique l'emporte sur le risque d'hémorragie induit par les anticoagulants antivitamine K, toutes les lignes directrices conseillent de traiter tous les patients avec un score CHADS₂ supérieur ou égal à 2 (Coppens et al. 2013; You et al. 2012). L'anticoagulation orale (warfarine et d'autres antagonistes de la vitamine K) réduit d'environ 70 % le risque d'AVC chez ces patients (Rg, La, and Mi 2007; Singer et al. 2004).

CHA₂DS₂-VASc	Points
C : Insuffisance cardiaque/dysfonction VG	1
H : Hypertension artérielle	1
A₂ : Âge ≥ 75 ans	2
D : Diabète	1
S₂ : AVC/événement embolique	2
V : Pathologie vasculaire (coronopathie, infarctus, artériopathie périphérique, plaque aortique)	1
A : Âge 65 à 74 ans	1
Sc : Catégorie sexuelle	1

Tableau 10 : Score CHA₂DS₂VASc

2. Modulation de l'hémostase primaire

Chez les patients avec une FA, l'adhésion plaquettaire est favorisée par une dysfonction endothéliale et l'augmentation du vWF plasmatique (Nattel and Opie 2006; Feng et al. 2001; Li-Saw-Hee, Blann, and Lip 2000). Ces taux élevés en vWF ont été associés à de plus faibles taux de la métalloprotéase ADAMTS13 clivant les multimères et un score CHA₂DS₂—VASc supérieur (F. Zhang et al. 2017). L'agrégation plaquettaire est également augmentée chez ces patients au travers la perte de biodisponibilité du NO (Cai et al. 2002) et l'augmentation du FGN (Tilly et al. 2023; Li-Saw-Hee, Blann, and Lip 2000).

Les biomarqueurs d'activation plaquettaire : P-sélectine soluble (Violi and Loffredo 2012; Heeringa et al. 2006; Li-Saw-Hee, Blann, and Lip 2000), facteur plaquettaire 4 (PF-4), β-thromboglobuline (Kamath

et al. 2002; Gustafsson et al. 1990) et sCD40L sont élevés chez ces patients, et sont associés à l'augmentation des événements cardiovasculaires (Ferro et al. 2007; Tilly et al. 2023) (*tableau 8*).

3. Modulation de la coagulation plasmatique

Les patients atteints de FA chronique présentent un profil hypercoagulable. En effet, on observe une augmentation de la génération de thrombine et de l'expression du FVIII ainsi que de son activité (T.-D. Wang et al. 2001; M. N. Negreva et al. 2020). Cette augmentation est associée à une diminution du contrôle endothélial par la thrombomoduline et le TFPI (Cai et al. 2002; Yamashita et al. 2003).

4. Modulation de la fibrinolyse

Plusieurs études ont mis en évidence une hypofibrinolyse chez ces patients caractérisés par une augmentation de PAI-1 (Tilly et al. 2023; Jabati et al. 2018; Feng et al. 2001) et des produits de dégradation de la fibrine : D-dimères (M. Negreva, Georgiev, and Vitlianova 2016; T.-D. Wang et al. 2001) (*tableau 8*).

e) Vieillesse

Le risque d'événements thromboemboliques veineux et notamment de l'embolie pulmonaire augmente d'un facteur 10 avec l'âge (< 40 ans vs > 75 ans) (Silverstein et al. 1998; Wilkerson and Sane 2002). L'incidence de ces événements est multipliée par 5 entre les individus de plus de 85 ans et ceux âgés de 65 et 69 ans. L'âge est également reconnu comme un facteur de risque de récurrence (Heit et al. 2000; White 2003).

1. Modulation de l'hémostase primaire

Meade et ses collaborateurs mettent en évidence un taux significativement plus faible de FGN (250 mg/dL) chez les individus jeunes (20 ans) par rapport aux individus âgés (53 à 64 ans) (300 mg/dL) (Meade et al. 1977). Chaque décennie, une augmentation d'environ 10 mg/dL est observée et ces effets sont en partie liés à l'inflammation chronique (IL-6) (Ershler 1993; Daniela Mari, Coppola, and Provenzano 2008). Une augmentation importante du vWF est également observée chez les individus centenaires favorisant ainsi l'adhésion plaquettaire (Coppola et al. 2003).

Les plaquettes des individus âgés sont hyperactives, et sécrètent des quantités élevées de PF4 et de bêta-thromboglobuline (β -TG) (Zahavi et al. 1980; Bastyr, Kadrofske, and Vinik 1990) (*tableau 8*). Par rapport aux personnes plus jeunes, ces plaquettes sont également plus réactives à l'ADP et au collagène (Kasjanovová and Baláz 1986; Johnson, Ramey, and Ramwell 1975). Avec le vieillissement, la densité en récepteurs plaquettaires pour la prostacycline diminue, les rendant moins sensibles à ses effets antiagrégants (Modesti et al. 1985). En outre, les rats âgés présentent une diminution de la production de NO endothélial (Chou et al. 1998; Durrant et al. 2009).

Le vieillissement est caractérisé par la présence d'un état inflammatoire médié par l'IL-6 (Ershler 1993; Ferrucci et al. 2005) favorisant l'activation plaquettaire (Oleksowicz et al. 1994). Il semblerait également que cet état favorise la présence d'un sous-type de monocytes non classiques et proinflammatoires (CD14^{low}/CD16^{high}) (Seidler et al. 2010; Sadeghi et al. 1999) ayant déjà été impliqué dans la formation d'agrégats monocytes-plaquettes (Ziegler-Heitbrock 2007; Mohebbi et al. 2014). L'augmentation de ces agrégats est corrélée au risque de TEV chez les patients âgés (Shih et al. 2016).

2. Modulation de la coagulation plasmatique

Il a été démontré que les concentrations plasmatiques de nombreux facteurs procoagulants augmentent avec l'âge chez les individus sains, notamment le FVII, le FVIII, le FIX, le FXII et le FXIII, (Tracy et al. 1992; Balleisen et al. 1985; Amin et al. 2012; D. Mari et al. 1995; Daniela Mari, Coppola, and Provenzano 2008a; Ariëns et al. 1999; Franchini 2006) (*tableau 8*). Des concentrations élevées en FVIII sont liées à un risque accru de thrombose veineuse chez les femmes âgées (Amin et al. 2012; Tracy et al. 1999). Chez l'Homme, les niveaux circulants en FIX augmentent avec l'âge jusqu'à atteindre des niveaux environ deux fois plus élevés que ceux observés chez les jeunes (J. D. Sweeney and Hoernig 1993; S. Kurachi, Hitomi, and Kurachi 1996; Bauer et al. 1990), augmentant le risque thrombotique (van Hylckama Vlieg et al. 2000). Cette augmentation d'expression du FIX pourrait être expliquée par la présence de modifications génétiques dans les régions 3' et 5' non traduites (K. Kurachi and Kurachi 2000).

En accord avec l'augmentation des facteurs de coagulation, les marqueurs de générations de thrombine sont augmentés chez les individus âgés : fragments 1 +2 de la prothrombine, complexes thrombine-antithrombine et fibrinopeptides A (Bauer et al. 1987; Cushman et al. 1996; D. Mari et al. 1995; Abbate et al. 1993).

3. Modulation de la fibrinolyse

Avec le vieillissement, le taux de PAI-1 augmente considérablement (Rizzo et al. 2002; Koji Yamamoto et al. 2005; Takeshita et al. 2002), il est lié au déclin de l'activité du FXII favorisant l'accumulation pathologique de fibrine (Gary et al. 2010) (*tableau 8*). D'importants taux en inhibiteurs

de carboxypeptidase plasmatique (TAFI), éliminant les résidus lysine et arginine C-terminaux de la fibrine ont également été mis en évidence dans une cohorte de femmes âgées (Juhan-Vague et al. 2000). Enfin, les taux de D-Dimères plasmatiques sont plus élevés chez les patients âgés et prédictifs d'événements cardiovasculaires, mais leur utilisation est remise en question (Tita-Nwa et al. 2010; Harper et al. 2007).

6) Association entre ICFEP et thrombose

Les principaux objectifs du traitement de l'IC, quelle que soit sa forme, sont d'améliorer l'hémodynamique cardiaque et de prévenir le développement d'arythmies et de remodelages dégénératifs. Les modifications de certaines caractéristiques hémodynamiques du flux sanguin, telles que celles associées à une mauvaise compliance myocardique et ventriculaire, peuvent contribuer à la formation de thrombus (G. Y. Lip et al. 1995).

Alors que la présence d'un état « procoagulant » dans l'ICFEr a été établie (Siniarski et al. 2023; Jafri 1997), **les caractéristiques de l'hémostase dans l'ICFEp sont relativement inconnues**. En effet, peu d'études se sont intéressées aux modulations de la coagulation spécifiquement dans des cohortes de patients atteints d'ICFEp. En revanche, comme nous l'avons vu précédemment, les facteurs de risques associés à la pathologie présentent des perturbations de l'hémostase (Siniarski et al. 2023; Gong et al. 2018). De plus, il a été démontré que les patients souffrant d'ICFEp ont un risque de thromboses veineuses et d'AVC supérieur à celui de la population générale (1,8 % contre 0,54 %) (Fanola et al. 2020; Abdul-Rahim et al. 2017).

a) Modulation de l'hémostase primaire

1. Hyperactivation/agrégation plaquettaire

Dans l'ICFEp, il semblerait y avoir une hyperactivation plaquettaire. In vivo dans un modèle de rats avec dysfonction diastolique, le rétablissement de la signalisation du NO endothélial démontré précédemment bénéfique pour la fonction diastolique n'a eu aucune répercussion sur cette dernière, mais a permis de réduire l'activation plaquettaire (Flierl et al. 2015). L'utilisation d'un antiagrégant plaquettaire (Clopidogrel) dans un modèle d'hypertension (Ang II) a eu des effets bénéfiques sur l'inflammation et la fibrose cardiaque. Il est proposé que ces effets bénéfiques du Clopidogrel soient liés à une diminution des agrégats leuco-plaquettaires (Jia et al. 2013).

Dans le cadre de l'ICFEp, il a été démontré que l'activation des plaquettes et des monocytes peut se produire de manière indépendante (Glezeva et al. 2015b; Hulsmans et al. 2018). Dans ce contexte, le rôle des interactions leucocytes-plaquettes dans la pathogenèse de l'ICFEp peut être significatif. En ce

sens, il a été démontré in vitro que sécrétion des médiateurs plaquettaires sCD40L et P-sélectine favorisent l'expression du FT par les monocytes (Lindmark, Tenno, and Siegbahn 2000; A Celi et al. 1994) et les granulocytes (Maugeri et al. 2006).

Une augmentation du marqueur d'activation plaquettaire P-sélectine soluble circulante est observée chez les patients atteints de dysfonction diastolique (Füth et al. 2009). Il est proposé que la P-sélectine interagisse avec le Ligand-1 de la glycoprotéine P-sélectine (PSGL1) des monocytes. Cette interaction augmenterait la thrombogénicité, l'activation endothéliale, la transmigration des monocytes dans les tissus voisins, et la libération de médiateurs pro-inflammatoires (protéine chimiotactique monocyttaire 1 [MCP-1], TNF- α , IL-8). La présence de ces agrégats est également retrouvée chez les individus atteints d'HTA (Gkaliagkousi et al. 2009) (*tableau 11*). Il est nécessaire de préciser qu'actuellement, il n'existe aucun lien permettant de démontrer le rôle des agrégats monocytes-plaquettes dans la physiopathologie de l'ICFEP.

Hémostase primaire	Modulation de l'expression de facteurs pro-thrombotiques	<ul style="list-style-type: none"> • ↗ vWF
	Modulation de l'activation plaquettaire	<ul style="list-style-type: none"> • ↗ P-sélectine
	Modulation du protéome plaquettaire	<ul style="list-style-type: none"> • ↗ S100A8 • ↗ PON-1
	Modulation des interactions monocytes-plaquettes	<ul style="list-style-type: none"> • ↗ interactions P-sélectine — PGSL1
Modulation de la fibrinolyse		<ul style="list-style-type: none"> • ↗ PAI-1 • ↗ complexe PAI-1/t-PA • ↗ D-dimères
Autres	Modulation des NETs (Immunothrombose)	<ul style="list-style-type: none"> • ↗ PLR & NLR • ↗ NETs
	Modulation de l'activation mastocytaire	<ul style="list-style-type: none"> • ↗ Dégranulation mastocytaire

Tableau 11 : Modulation de l'hémostase dans l'ICFEP

2. Protéome plaquettaire modifié

Chez les individus sains, le protéome plaquettaire est stable, avec seulement de petites variations d'expression des protéiques (Burkhart et al. 2014). En revanche, **les patients avec une ICFEP auraient un protéome plaquettaire modifié, et son étude pourrait contribuer à une meilleure compréhension de physiopathologie.** À partir de ce constat, Raphael et collaborateurs ont récemment comparé le protéome plaquettaire de patients atteints d'ICFEP à des témoins sains et ont identifié la

protéine S100A8. Auparavant, cette protéine avait déjà été associée à un risque élevé d'infarctus du myocarde, d'athérosclérose et d'AVC (Raphael et al. 2016).

Une autre analyse du protéome plasmatique a mis en évidence des niveaux significativement plus faibles de paraoxonase-1 (PON-1) chez les patients avec une ICFEp. La diminution de cette glycoprotéine dans l'inflammation et la coagulation a déjà été associée à un risque cardiovasculaire accru (Dixit, Blair, and Ozcan 2022; Sikora et al. 2020; Shunmoogam, Naidoo, and Chilton 2018) ([tableau 11](#)). En effet, une déficience en PON-1 dans un modèle murin a été démontrée comme favorisant l'activation endothéliale et le développement de thrombus (Ng et al. 2008).

3. Modulation de la fibrinolyse

Comme nous l'avons déjà observé précédemment, l'ensemble des facteurs de risque associés à l'ICFEp présente des taux élevés de PAI-1. Dans ce contexte, **des taux élevés en PAI-1 ont été démontrés comme spécifiquement liés à l'incidence de l'ICFEp, ce qui n'est pas le cas de l'ICFEr** (Heinzel and Shah 2022; de Boer et al. 2018; Jug et al. 2009). Son complexe avec le t-PA (t-PA/PAI-1) est proposé comme un facteur de pronostic supérieur aux NT-proBNP (Winter et al. 2017)([tableau 11](#)).

Les patients avec une ICFEp présentent également des taux accrus en D-Dimères plasmatiques. Une relation entre ce taux lors de l'admission et la mortalité toutes causes confondues chez ces patients est mise en évidence dans certaines études (L. Huang et al. 2022; de Boer et al. 2018). Enfin, dans une population de seniors avec dysfonction diastolique, une élévation des D-Dimères (> 0.25mg/L) multipliait par 4 le risque de mortalité cardiovasculaire (Alehagen, Dahlström, and Lindahl 2004).

b) Neutrophiles et NETs

Les neutrophiles constituent une part importante des leucocytes dans les thrombus et sont parmi les premiers à être recrutés après l'activation de l'endothélium ou lors de la formation d'un thrombus (von Brühl et al. 2012).

Dans les études cliniques, l'activation des plaquettes et la réponse immunitaire sont mesurées à l'aide de deux ratios basés sur les lymphocytes, les neutrophiles et les plaquettes. Un rapport plaquettes/lymphocytes (PLR) élevé dénote une inflammation et une activation plaquettaire, tandis qu'un rapport neutrophiles/lymphocytes (NLR) élevé dénote un déséquilibre entre les réponses immunitaires innées et acquises. Ces deux ratios sont plus élevés chez les patients atteints d'ICFEp et sont associés à de mauvais pronostics (Tamaki et al. 2023; Curran et al. 2021) ([tableau 11](#)).

Les neutrophiles peuvent libérer des structures chromatiniques et former des Neutrophil extracellular traps (NETs) en réponse à des stimuli cytokiniques, hypoxiques et à l'activation plaquettaire. En temps normal, les NETs aident à éliminer plus efficacement les agents pathogènes, mais ils peuvent également entraîner des lésions tissulaires, une auto-immunité et une coagulation inappropriée (Papayannopoulos 2018).

Les histones (Ammollo et al. 2011; 2011; Semeraro et al. 2011) et les sérines protéases qui composent les NETs, participent à l'hémostase en favorisant : l'agrégation plaquettaire, la génération de thrombine (Martinod and Wagner 2014) et la stabilité du caillot (Longstaff et al. 2013).

La fibrine et les NETs interagissent afin de promouvoir la réponse immunitaire dans un mécanisme appelé « immunothrombose ». Les NETs coopèrent également avec les facteurs prothrombotiques vWF, FT (T. A. Fuchs et al. 2010; Engelmann and Massberg 2013; von Brühl et al. 2012) sous le terme de « thromboinflammation » à la suite d'une dysfonction endothéliale (Wenzel 2022).

Selon des études menées chez la souris et l'Homme, les NETs peuvent contribuer à la thrombose artérielle (Megens et al. 2012; Borissoff et al. 2013) et à la thrombose veineuse (T. A. Fuchs, Brill, and Wagner 2012; Downing et al. 1996; Brill et al. 2012; Savchenko et al. 2014; S. Kapoor, Opneja, and Nayak 2018) (*figure 37*).

Un taux ou une fonction anormale des NETs ont souvent été associés à la survenue de maladies cardiovasculaires et facteurs de risques associés à l'ICFEP (Njeim et al. 2020). En effet, des niveaux élevés de NETs ont notamment été rapportés dans l'obésité (Freitas et al. 2022), la FA (Motek et al. 2022) et le DT2 (Wong et al. 2015; Charles et al. 2021). Dans un modèle murin d'IC, l'élévation des NETs a provoqué une microthrombose et une altération de la microcirculation myocardique (Tang et al. 2022). Enfin, récemment il a été mis en évidence par Zhang et collaborateurs une concentration circulante et une densité de NETs supérieure chez les patients atteints d'ICFEP (X.-L. Zhang et al. 2022). Dans cet article, l'inhibition de la formation de NETs dans un modèle murin a amélioré la fonction diastolique.

c) Mastocytes

Notre équipe a démontré précédemment que les mastocytes parmi tous les composants de l'inflammation sont également impliqués dans le développement de la dysfonction diastolique (*tableau 11*). L'inhibition de leur dégranulation dans des modèles de souris ou de rats a permis de prévenir l'insuffisance cardiaque (Guimbal et al. 2021a; H. Wang et al. 2016). Les mastocytes contiennent à la fois des médiateurs pro-inflammatoires tels que l'héparane, l'histamine et le TNF α , qui peuvent avoir un effet prothrombotique (*figure 37*), et des inhibiteurs de la coagulation, tels que l'héparine et le t-PA, qui peuvent être prédits pour prévenir la thrombose. La TVP est une thrombose immunitaire, et ses mécanismes comprennent des éléments d'inflammation, dont les mastocytes (A. L. Huang, Bosco, and Peter 2017; Ponomaryov et al. 2017).

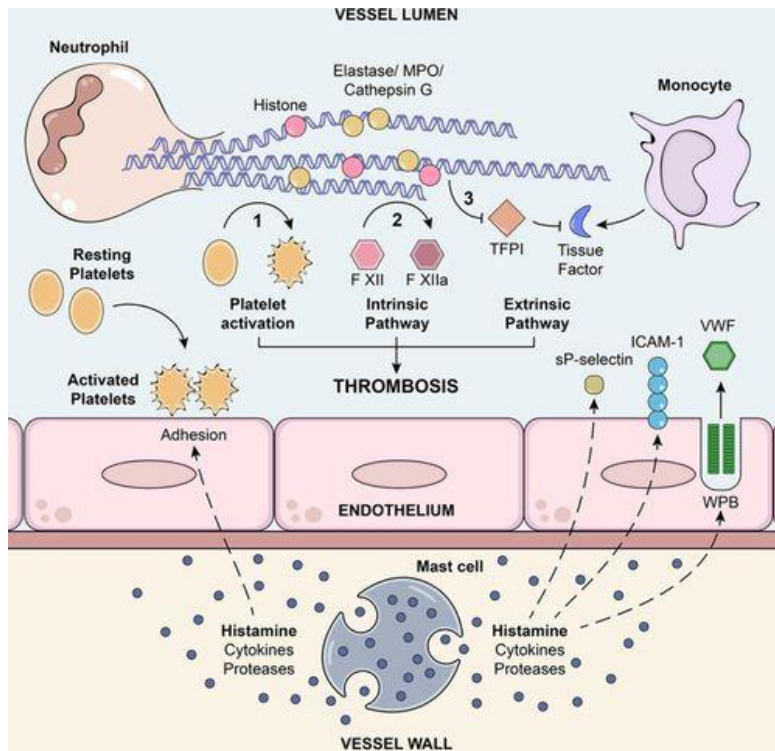


Figure 37 : Rôle des neutrophiles et mastocytes dans la thromboembolie veineuse

Les cellules immunitaires contribuent à la thromboembolie veineuse par divers mécanismes : les neutrophiles via la formation de pièges extracellulaires, qui activent les plaquettes (1) et conduisent à la formation de fibrine via l'activation du facteur XII (2) et l'inhibition de l'inhibiteur de la voie du facteur tissulaire (3) ; les monocytes via l'uprégulation et la libération du facteur tissulaire, activent la voie de coagulation extrinsèque ; les mastocytes par la dégranulation et la libération de constituants granulaires, dont l'histamine, les cytokines et les protéases, sont censées provoquer l'adhésion des plaquettes, la sécrétion du facteur de von Willebrand (vWF) et de la sélectine P soluble (sP-sélectine) ainsi que l'augmentation de l'expression de la molécule d'adhésion intercellulaire 1 (ICAM-1). MPO signifie myéloperoxydase ; TFPI, inhibiteur de la voie du facteur tissulaire ; et WPB, corps de Weibel-Palade (A. L. Huang, Bosco, and Peter 2017)

d) Traitements antithrombotiques et ICfEp

L'ensemble des facteurs de risques associés à l'ICfEp présente un phénotype hypercoagulable et le syndrome de l'ICfEp lui-même semble moduler l'hémostase. Il semblerait donc intéressant de cibler la coagulation et l'inflammation dans cette pathologie. Cependant, les résultats obtenus d'essais cliniques ciblant ces deux mécanismes ont des résultats conflictuels et dans certains cas des effets secondaires. En revanche comme le souligne Glezeva et collaborateur, la plupart des études précédemment réalisées (HELAS, PLUTO-CHF, WASH, WATCH, WARCEF) (Cokkinos et al. 2006; Serebruany et al. 2003a; J. G. F. Cleland et al. 2004; Massie et al. 2009; Homma et al. 2012) n'étaient pas prospectives, pas randomisés et incluaient majoritairement des patients atteints d'ICfEr (Glezeva et al. 2016) (tableau 12). Parmi ces études un risque d'augmentation des événements hémorragiques en présence d'aspirine a été évoqué, ainsi qu'une interaction avec les traitements du SRAA à certaines doses. Le rapport bénéfice/risque des agents anti-agrégants peut être lié à la dose puisqu'il a été démontré des effets rénaux et hémorragiques au-delà de 80 mg/jour (Juhlin, Jönsson, and Höglund 2008) ce qui peut expliquer les effets indésirables observés. Bermingham et collaborateurs mettent en évidence dans une étude rétrospective incluant une plus grande proportion de patients atteints d'ICfEp par rapport

aux études précédentes, un effet bénéfique d'une faible dose d'aspirine sur la mortalité et l'hospitalisation (Bermingham et al. 2014).

Etude	Type d'IC	Nombre de patients	Thérapie	Résultats
<p>HELAS (Cokkinos et al. 2006) Multicentrique Randomisée Double aveugle</p>	<p>ICFEr (FEVG < 35 %)</p>	197	<p>Aspirine (325 mg/jour) ou Warfarine (2.510 mg/jour).</p>	↔ Incidents emboliques
<p>PLUTO-CHF (Serebruany et al. 2003a) Prospective Randomisée Suivi : 1 mois</p>	<p>ICFEr (FEVG < 40 %) IC congestive</p>	88	<p>Aspirine (325 mg/jour) et clopidogrel (75 mg/jour) Vs Aspirine seule (75 mg/jour) s</p>	<p>Thérapie combinée ↳ Activation/agrégation plaquettaire ↳ P-selectine ↳ Plaquettes-leucocytes</p>
<p>WASH (J. G. F. Cleland et al. 2004) Randomisée Contrôlée Suivi : 27+/- 1 mois</p>	ICFEr	279	<p>Aspirine (300 mg/jour) Vs Warfarine (INR 2.5) Vs Placebo</p>	<p>↔ Mortalité ↔ Infarctus myocarde ↔ AVC Aspirine : ↗ ré hospitalisations</p>

<p>WATCH (Massie et al. 2009)</p> <p>Prospective, Randomisée Suivi moyen : 1.9 ans</p>	<p>ICFEr</p>	<p>1587</p>	<p>Aspirine (162 mg/jour) ou Clopidogrel (75 mg/jour) Vs Warfarine (INR 2.5-3.0)</p>	<p>3 traitements : ↳ Mortalité ↳ AVC et IDM non mortels</p> <p>Warfarine : ↳ hospitalisations ++ ↗ risque de saignements</p>
<p>WARCEF (Homma et al. 2012)</p> <p>Double aveugle Multicentrique Suivi moyen 3.5±1.8 ans</p>	<p>ICFEr</p>	<p>2305</p>	<p>Aspirine (325 mg/jour) Vs Warfarine (INR 2.0-3.5)</p>	<p>↔ AVC ↔ Hémorragie intracérébrale ↔ Mortalité</p> <p>Warfarine : ↗ Risque d'hémorragie ↗ Ré hospitalisations</p>
<p>Bermingham et al. 2014</p> <p>Observationnelle Retrospective Suivi moyen : 2.6 ans</p>	<p>ICFEr ICFEp</p>	<p>1476 avec comorbidités</p>	<p>Aspirine faible dose (75 mg/jour) Vs Placebo et Aspirine forte dose (>75 mg/jour)</p>	<p>Aspirine faible dose vs non traité : ↳ Mortalité ↳ Hospitalisation</p> <p><i>Absence de différences entre faible et forte dose sur la mortalité</i></p>

Tableau 12 : Etudes cliniques sur le bénéfice d'un traitement antithrombotique dans l'IC

e) Conclusion

Bien que dans l'ensemble des facteurs de risque associés à l'ICFEp, des anomalies des processus de régulation de l'hémostase sont observées. A l'heure actuelle, la présence d'un phénotype prothrombotique dans l'ICFEp n'a pas encore été identifié. Plusieurs observations associent l'ICFEp à une modification du phénotype plaquettaire (hyperactivation, protéome), de la fibrinolyse et suggèrent l'implication de « l'immuno thrombose ». Il reste encore à déterminer si les troubles de l'hémostase sont une cause ou une conséquence de l'ICFEp.

7) Voie de signalisation Hh

Le morphogène Hedgehog (Hh) a été découvert par Nüsslein—Volhard en 1980, à partir de travaux sur la larve de drosophile (*Drosophila melanogaster*) et a été montré comme essentiel au développement embryonnaire et à la polarisation des segments (Nüsslein-Volhard and Wieschaus 1980). Le nom d'Hh lui a été donné en raison de l'aspect des larves mutées pour ce gène : courtes et recouvertes de spicules.

La voie de signalisation Hh joue un rôle important dans le développement embryonnaire des invertébrés et des vertébrés (Ingham and McMahon 2001).

Dans le génome des mammifères, il a été identifié 3 gènes Hh homologues: Desert Hedgehog (Dhh), Indian Hedgehog (Ihh) et Sonic Hedgehog (Shh) (Echelard et al. 1993). La voie Hh est généralement inactive ou peu active chez l'adulte. Elle prend part aux processus de renouvellement et de différenciation des cellules souches pluripotentes somatiques dans différents organes tels que le cerveau (Ihrie et al. 2011; Ahn and Joyner 2005), la peau (Brownell et al. 2011; Oro and Higgins 2003), la prostate (Peng et al. 2013), la vessie (Shin et al. 2011), le pancréas (FENDRICH et al. 2008) et le tissu mammaire (Lewis et al. 2001).

Chez l'Homme une activation inappropriée de la signalisation Hh a été associée à plusieurs cancers (Taipale and Beachy 2001), notamment le carcinome basocellulaire (H. Hahn et al. 1996), le médulloblastome (Shi et al. 2014), le cancer du poumon (Watkins et al. 2003) et l'adénocarcinome du pancréas (Dembinski and Krauss 2009).

a) Synthèse des ligands

Les ligands Hh, SHH, IHH et DHH nécessitent des modifications post-traductionnelles afin d'exercer leur activité. Ils sont synthétisés sous la forme de préprotéines d'environ 45 kDa chez les mammifères. À leur extrémité N-terminale, des résidus d'adressage d'environ 25 acides aminés (peptide signal) sont présents. Ils seront reconnus par une particule de reconnaissance du signal lors de leur translocation dans le réticulum endoplasmique puis clivés par une protéase spécifique. Après élimination des résidus d'adressage, les ligands sont sous leur forme longue « Full-length ». Elle est constituée d'une séquence N-terminale contenant un domaine de signalisation et d'une séquence C-terminale autocatalytique. Les protéines Hh vont ensuite subir un mécanisme d'autoprotéolyse de la partie C-terminale. Elle permet la libération d'un polypeptide N-terminal ou N-Hh de 19 kDa et d'un polypeptide C-terminal d'environ 26 kDa qui sera ensuite dégradé (Porter, Young, and Beachy 1996; J. J. Lee et al. 1994). Le polypeptide N-Hh sécrété quant à lui va s'ancrer à la cellule grâce à une liaison à la molécule de cholestérol en C-terminal de N-Hh (J. Jeong and McMahon 2002). N-Shh, subit également l'ajout d'un groupement palmitate sur un résidu cystéine en N-terminal par l'Hedgehog acétyl transférase (Hhat) (Pepinsky et al. 1998; Farzan et al. 2008; Jiang, Benz, and Long 2021). Les processus de synthèse des ligands DHH et IHH ont été moins étudiés que ceux de SHH et pourraient

différer. Les protéines HH ancrées à la cellule sont ensuite libérées par les actions synergiques de la Disp1 (membre de la famille des transporteurs dispatched RND) (Ehring et al. 2022) et de la protéine Scube2 (peptide signal, domaine CUB et EGF like domain containing 2) (Tukachinsky et al. 2012; Wierbowski et al. 2020) (figure 38). Afin d'exercer son activité de libération des ligands récemment démontrée comme étant liée aux flux de sodium transmembranaires (Q. Wang et al. 2021), la Disp1 doit subir un clivage protéolytique (W. Li et al. 2021).

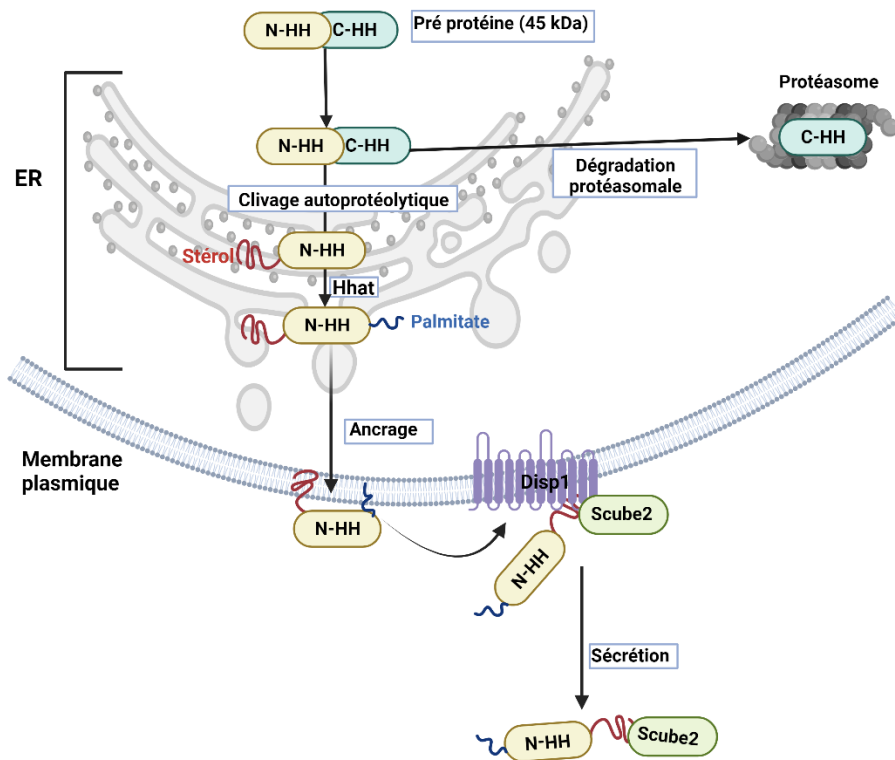


Figure 38 : Modification post-transcriptionnelle et sécrétion de Shh

Adapté de Candice Chapouly et al. 2019 Shh est synthétisée sous la forme d'une protéine longue (FL-Dhh) de 45 kDa. Une réaction autocatalytique élimine le domaine carboxy-terminal et attache un groupement de cholestérol au carboxy-terminal nouvellement exposé. Ensuite, l'Hhat catalyse l'ajout d'un palmitate N-terminal. La sécrétion et la solubilité de Shh dépendent de Disp1 et de Scube2.

b) Signalisation cellulaire

Les principaux récepteurs de la voie de signalisation Hh sont **PTCH1 (PATCHED-1)** et **SMO (Smoothed)**. Le récepteur PTCH1 (PATCHED-1) est une protéine à 12 segments transmembranaires de la superfamille des transporteurs membranaires de la résistance-nodulation-division (RND) et du transporteur de cholestérol Niemann-Pick C1 (NPC1). Le corécepteur SMO, est quant à lui, composé de 7 domaines transmembranaires et appartient à la famille des récepteurs couplés aux protéines G (Yunxiao Zhang and Beachy 2023). En l'absence de ligands Hh, SMO est inhibé par PTCH1 (Yunxiao Zhang and Beachy 2023; Taipale et al. 2002). Il est proposé que cette inhibition serait dépendante d'un second messager ayant une structure proche de celle du cholestérol ou que PTCH1 aurait une activité

de canal impliquant un domaine stérol (Yunxiao Zhang et al. 2020; Kowatsch et al. 2019; Hausmann, von Mering, and Basler 2009). Lorsque les ligands Hh interagissent avec PTCH1, l'inhibition de SMO est levée et la voie de signalisation est activée. L'activation de SMO induit deux types de voies de signalisation en aval: « canonique ou GLI dépendantes » et « non canonique ou GLI indépendante ». L'activation de la voie canonique favorise la survie et la prolifération cellulaire (Wechsler-Reya and Scott 1999; Robbins, Fei, and Riobo 2012; Dahmane and Ruiz i Altaba 1999), tandis que la voie non canonique est impliquée dans des changements du cytosquelette et de la migration cellulaire (Thibert et al. 2003; Mille et al. 2009; Chinchilla et al. 2010).

1. Voie canonique

La transduction du signal à partir de SMO conduit à l'activation d'une voie de signalisation canonique régulant l'expression de nombreux gènes. Elle fait intervenir les facteurs de transcription à doigts de zinc : GLI 1 ; GLI 2 et GLI 3. Structurellement, GLI-2 et GLI-3 possèdent une séquence de dégradation (dégron), un site de liaison à SUFU (suppressor of fused) et diffèrent à leur extrémité N-terminale (Sigafos, Paradise, and Fernandez-Zapico 2021; Paweł Niewiadomski et al. 2019; Hui and Angers 2011) (figure 39). L'activité de GLI-2 et GLI-3 est régulée par l'intermédiaire de modifications post-transcriptionnelles de leur région C-terminale dépendantes de la PKA, de la glycogène synthase kinase-3 (GSK3 β) et de la caséine kinase 1 (CK-1) et elles sont dégradés par le protéasome (Sigafos, Paradise, and Fernandez-Zapico 2021; C. Zhao et al. 2009; M.-H. Chen et al. 2009).

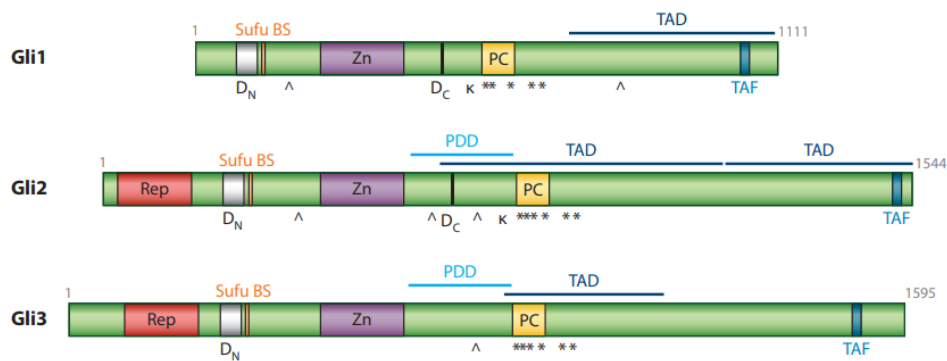


Figure 39 : Séquences et domaines d'interaction des protéines GLI-1, GLI-2, GLI-3

Adapté de Sigafos, Paradise, and Fernandez-Zapico 2021 et de Hui and Angers 2011. Rep (rouge) représente le repressor domain, TAD représente le domaine d'activation de la transcription, PDD représente le domaine de maturation, DNDC représente la séquence de dégron, Sufu Bs représente le site de liaison SUFU, Zn (violet) représente le domaine à doigt de zinc, * représente les sites de liaison de la PKA..

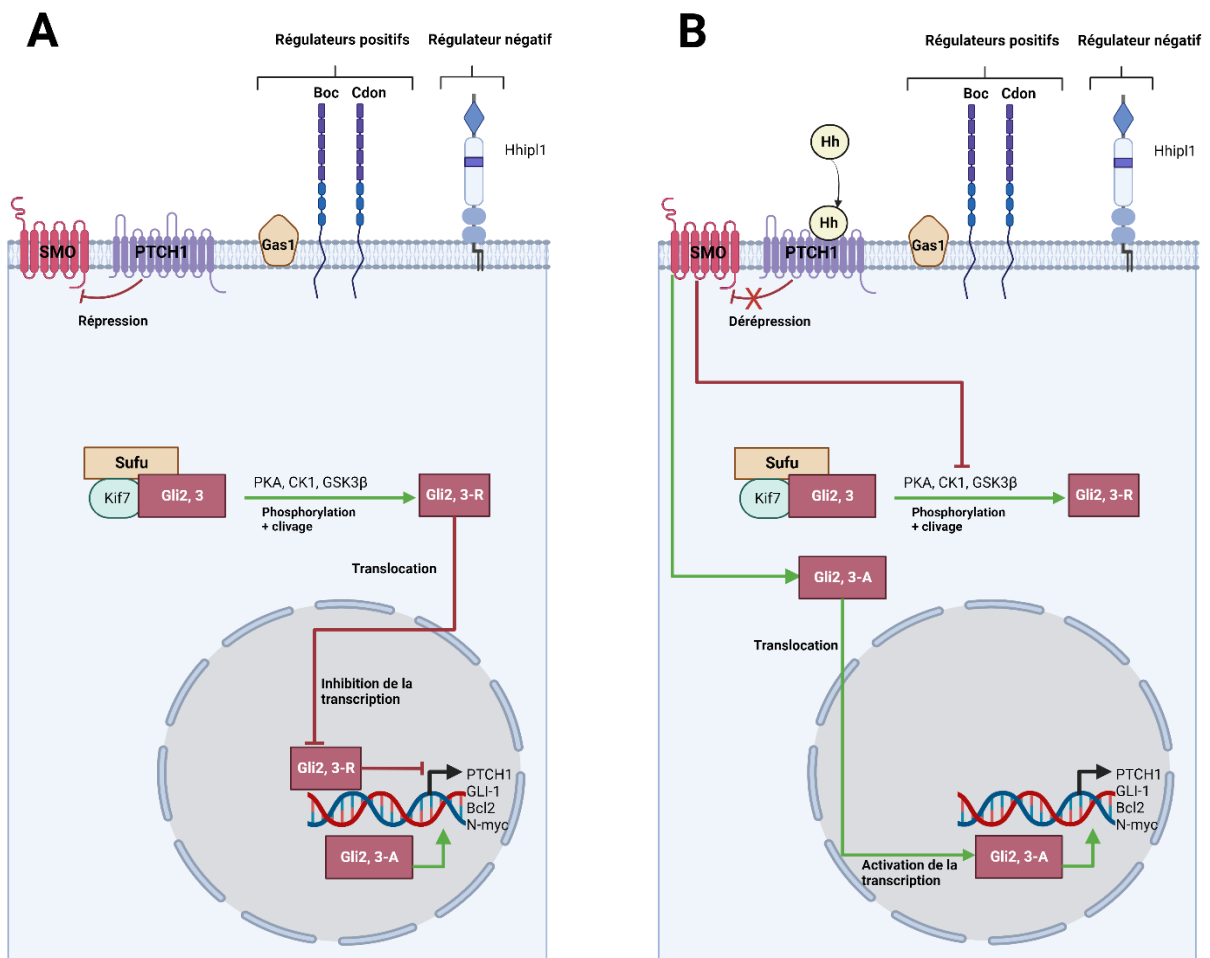


Figure 40 : Voie de signalisation Hedgehog canonique.

Adapté de Candice Chapouly et al. 2019. **A)** Signalisation canonique Hh. En l'absence de ligand Hh, Smo est inhibé par Ptch1 et les facteurs de transcription Gli sont associés au régulateur négatif de la signalisation hedgehog (Sufu) et au membre 7 de la famille des kinésines (Kif7). Ce dernier complexe favorise la phosphorylation de Gli3 et Gli2 par la PKA, CK1 et GSK3. Une fois phosphorylées, les protéines Gli2 et Gli3 sont traitées par le complexe ubiquitine ligase pour générer respectivement les formes répressives Gli2R et Gli3R. **B)** La liaison des ligands Hh à Ptch1 entraîne l'activation de Smo, qui empêche le clivage de Gli2 et Gli3. Les Gli2 et Gli3 non clivés peuvent alors transloquer dans le noyau et activer la transcription..

Chez les mammifères, le principal régulateur négatif des facteurs de transcription GLI est une protéine de 484 acides aminés : SUFU (Svärd et al. 2006).

En l'absence de ligand Hh, SUFU régule négativement la transduction du signal en formant un complexe avec GLI-2/3 permettant aux kinases GSK3 β , CK-1 et PKA de phosphoryler GLI-2/3 (Price 2006; M.-H. Chen et al. 2009; Paweł Niewiadomski et al. 2019) (figure 40 ; A). Les facteurs GLI phosphorylés sont ensuite ubiquitylés et dégradés par le protéasome. GLI-1 est totalement dégradé tandis que GLI-2 et GLI-3 libèrent leur extrémité N-terminale (GLI2-R, GLI3-R). GLI-2R et GLI-3R vont ensuite réprimer la transcription de gènes cibles (Paweł Niewiadomski et al. 2014).

En présence des ligands Hh, SUFU est phosphorylé et les facteurs GLI-2 et GLI-3 sont libérés de leur complexe répresseur et ne vont pas être clivés. Leur forme complète et activatrice (GLI-A) va ensuite transloquer dans le noyau pour activer la transcription de gènes cibles (Hallikas et al. 2006; Horák et al. 2023) (figure 40 ; B).

2. Voie non canonique

Outre la voie de signalisation canonique, il est suggéré que les protéines Hh peuvent agir via deux autres types de voies de signalisation non canoniques et indépendantes des facteurs de transcription GLI (*figure 41*).

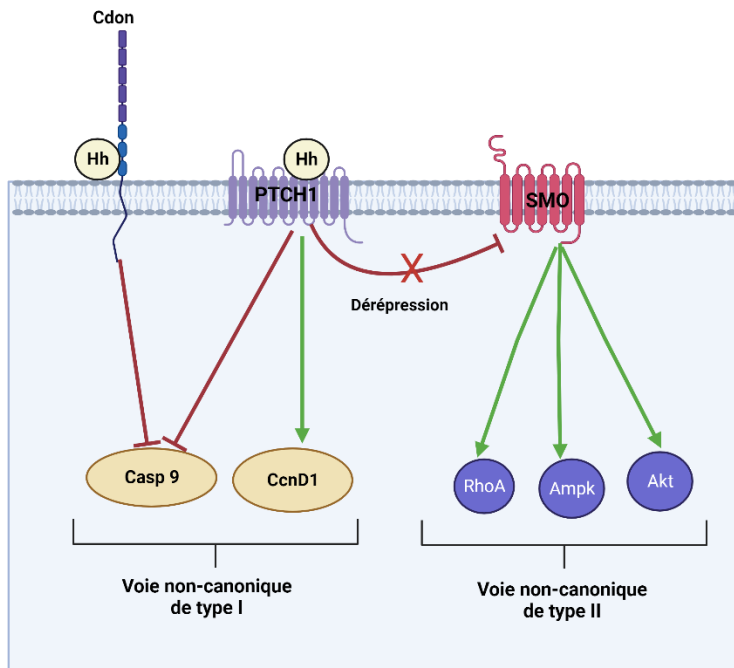


Figure 41 : Voie Hedgehog non canonique

La liaison du ligand Hh à Ptch1 ou à Cdon peut, indépendamment de Smo, favoriser la survie ou la prolifération cellulaire en modulant l'activité de la Caspase 9 (Casp9) ou de la Cycline D1 (CcnD1), respectivement. C'est ce que l'on appelle la signalisation non canonique de type I. Les ligands Hh peuvent également activer PI3K/Akt, RhoA/ROCK ou AMPK, via Smo, mais indépendamment des facteurs de transcription Gli. C'est ce qu'on appelle la signalisation non canonique de type II

a. Voie non canonique de type 1

La voie non canonique de type I est indépendante de SMO (*figure 41*). Dans cette voie, le récepteur PTCH1 fonctionne comme un récepteur à dépendance favorisant l'apoptose par l'intermédiaire d'un site de liaison ADD (Addiction/dependence domain) carboxy-terminal (Kagawa et al. 2011, 1). En l'absence de ligands Hh, l'exposition du domaine ADD par clivage par les caspases 3 et 9 induit l'apoptose (Thibert et al. 2003; Kagawa et al. 2011; Chinchilla et al. 2010). L'apoptose est notamment régulée par le recrutement du complexe apoptotique DRAL/Caspase-9/TUCAN-1 par le domaine ADD (Mille et al. 2009). PTCH1 régule également le cycle cellulaire en prévenant la localisation nucléaire de la cycline B1 (Elizabeth A. Barnes, Heidtman, and Donoghue 2005; E. A. Barnes et al. 2001) et D1 (Adolphe et al. 2006).

b. Voie non canonique de type 2

Contrairement à la voie non canonique de type 1, la voie non canonique de type 2 est dépendante de SMO, mais indépendante des acteurs de la voie canonique (figure 41). Elle dépend principalement du fait que SMO est un récepteur couplé aux protéines G fonctionnelles ayant une sélectivité pour les protéines Gi hétérotrimériques (Riobo et al. 2006). L'activation de SMO peut conduire à l'activation Gi dépendante de GTPases telles que RhoA et Rac1 intervenant dans la modulation des fibres de stress d'actine et la migration des fibroblastes (Ho Wei et al. 2018; Polizio et al. 2011; Chinchilla et al. 2010; Sasaki, Kurisu, and Kengaku 2010). Cette voie de signalisation permet également de moduler l'axe AMPK (AMP-activated protein kinase) (Teperino et al. 2012).

c) Signalisation Hh dans la cellule endothéliale

L'ensemble des mécanismes de la voie de signalisation Hh dans la CE n'est pas encore identifié. Cependant, la voie de signalisation dans la CE est intéressante puisqu'elle semble impliquer exclusivement une signalisation non canonique (figure 42) et agir de manière autocrine (Caradu, Couffinhal, et al. 2018a). La transcription dépendante de GLI n'est, en effet, pas détectable dans les cellules endothéliales de veine de cordon ombilical humain (HUVECs) ni dans les cellules endothéliales microvasculaires (HMVECs) (Chinchilla et al. 2010; M.-A. Renault et al. 2010). La transmission du signal dans les CE semble impliquer la voie de signalisation non canonique de type II dépendante des Rho GTPase (M.-A. Renault et al. 2010; Chinchilla et al. 2010; Polizio et al. 2011; Q.-W. He et al. 2013) ou l'axe PI3K/Akt (Chinchilla et al. 2010; M.-A. Renault et al. 2010; Kanda et al. 2003) (figure 42). Le laboratoire a précédemment mis en évidence un rôle bénéfique du ligand DHH et plus particulièrement de sa forme longue FL-Dhh sur le maintien de l'intégrité des CE. Cet effet bénéfique est potentialisé par GAS1 et est altéré en présence du ligand SHH sous sa forme N-terminale (N-Shh) et de CDON (Hollier et al. 2021a; Candice Chapouly et al. 2020b).

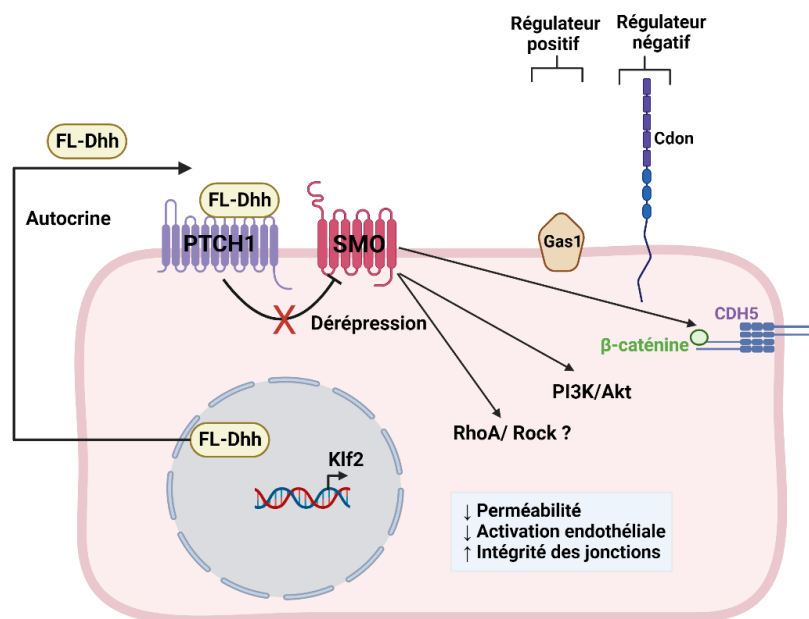


Figure 42 : Voie de signalisation Hedgehog et CE

La synthèse de DHH endothélial est dépendante de KLF2. Sa forme FL-Dhh agit sur la CE de manière autocrine et active les voies dépendantes des GTPases ou de la PI3K/Akt. Son activation régule la perméabilité et l'activation des CE.

d) Régulation de la voie Hedgehog

Chez le mammifère, d'autres récepteurs agonistes et antagonistes physiologiques de la voie Hh participent à la régulation de la signalisation. Certains corécepteurs tels que BOC (Brother of Cdon), CDON (Cell adhesion molecule-related/downregulated by oncogenes) et GAS1 (Growth arrest specific 1) (Allen, Tenzen, and McMahon 2007; Tenzen et al. 2006) favorisent l'activation de la voie de signalisation en favorisant notamment l'interaction entre les ligands Hh et PTCH1 tandis que HHIP (Hedgehog interacting protein) l'inhiberait (Ramsbottom and Pownall 2016; Allen et al. 2011).

1. Régulateur négatif de la voie Hedgehog

HHIP

La protéine HHIP est une glycoprotéine membranaire ayant une affinité pour les ligands Hh similaire à celle de PTCH1 (P. T. Chuang and McMahon 1999; Holtz et al. 2015; Kwong, Bijlsma, and Roelink 2014a). Les études in vivo de surexpression et de perte de fonction d'HHIP ont permis d'identifier qu'elle agit comme un antagoniste direct des ligands Hh et empêche l'activation de la voie de signalisation Hh intracellulaire (P.-T. Chuang, Kawcak, and McMahon 2003). L'antagonisme d'HHIP dépend d'un domaine riche en cystéine en N-terminal. Ce domaine va se lier de manière covalente au cholestérol des ligands Hh et empêcher leur interaction avec PTCH1 (Griffiths et al. 2021). Comme PTCH1, HHIP est activé de manière transcriptionnelle en réponse à la signalisation Hh (Goodrich et al. 1996; P. T. Chuang and McMahon 1999). Cette protéine joue un rôle important dans la morphogenèse puisque son blocage et celui du récepteur PTCH1 (tous deux important dans le rétrocontrôle de l'action

des morphogènes Hh) ont des répercussions morphogénétiques délétères (J. Jeong and McMahon 2005). La perte de fonction de HHIP provoque une régulation à la hausse de la signalisation Hh dans l'embryon de souris, perturbant les interactions cellulaires essentielles à la morphogénèse normale des poumons et du squelette (P.-T. Chuang, Kawcak, and McMahon 2003).

HHIP est fortement exprimé dans les CE, c'est pourquoi ces dernières ont longtemps été considérées comme non répondantes aux ligands Hh. En revanche, l'expression d'HHIP est suggérée comme étant diminuée durant l'angiogenèse. Ainsi, une diminution d'HHIP pourrait contribuer à la suractivation de la voie Hh dans la néo-vascularisation tumorale et favoriser l'angiogenèse (Olsen et al. 2004).

2. Régulateurs positifs de la voie Hedgehog

a. BOC et CDON

Les corécepteurs CDON et BOC sont des glycoprotéines de surface appartenant aux molécules d'adhésion cellulaires de la famille des immunoglobulines conservées entre la drosophile et les mammifères (J.-S. Kang et al. 2002). Ils possèdent un ectodomaine contenant 4 et 5 domaines de type immunoglobuline suivis de 3 répétitions de fibronectine de type 3 (FNIII) et un domaine transmembranaire. Ils possèdent également une région intracellulaire de longueur variable. Les régions de type FNIII sont essentielles à la liaison des ligands Hh (J. Y. Song et al. 2015; J. S. Kang et al. 1997) (*figure 43*).

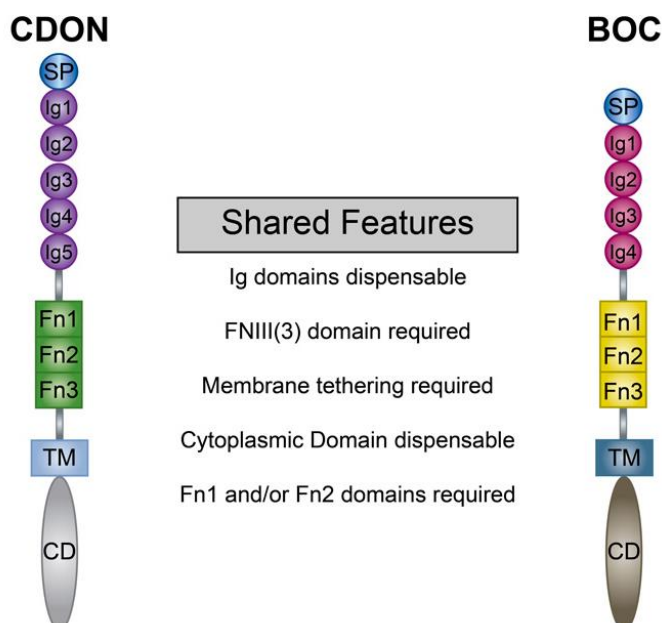


Figure 43 : Structure des co-récepteurs BOC et CDON

Chez l'embryon, CDON et BOC fonctionnent comme des régulateurs positifs de l'activité de la voie Hh en s'associant aux ligands et en régulant leur gradient de concentration à la membrane (Riobo and Manning 2007).

À l'inverse, dans les CE, CDON agit comme un régulateur négatif en empêchant la liaison du ligand DHH à PTCH1. L'expression de CDON est augmentée à la surface des CE par les cytokines pro-inflammatoires TNF α et IL1 β . Cette augmentation entraîne une déstabilisation des jonctions adhérentes et favorise l'expression de molécules d'adhésion. Il a été démontré qu'une inhibition de CDON permet de diminuer l'extravasation du FGN et des IgG induite par l'IL-1 en favorisant l'expression de la VE-Cadhérine (Candice Chapouly et al. 2020).

b. GAS 1

Le gène *Gas1* code une protéine appartenant à la famille des glycoprotéines liées à la membrane par une ancre de glycosylphosphatidylinositol (GPI). Chez l'embryon, BOC, CDON et GAS1 jouent un rôle coopératif dans la maintenance et la spécification des progéniteurs neuronaux (Allen et al. 2011; Allen, Tenzen, and McMahon 2007; Tenzen et al. 2006). Leur absence entraîne une perturbation de la prolifération cellulaire en réponse à SHH (Izzi et al. 2011).

Dans les CE, GAS1 agit comme un régulateur positif de la voie de signalisation Hh puisque son inhibition induit une surexpression des molécules d'adhésion ICAM-1 et VCAM-1. GAS-1 potentialise les effets bénéfiques de la forme longue du ligand DHH (FL-DHH) sur l'activation endothéliale en prévenant sa liaison au récepteur PTCH1 et en favorisant sa liaison à SMO (Candice Chapouly et al. 2020b). Il a été montré récemment une liaison entre GAS1 avec les motifs palmitates et cholestérols de N-SHH ainsi que la présence de contacts protéine-protéine entre GAS1 et PTCH1. Ces observations soutiennent le rôle de GAS1 dans l'adressage des ligands Hh à PTCH1 et l'activation de la voie Hh (P. Huang et al. 2022).

c. HHIPL1

La protéine 1 de type HHIP (HHIPL1) est une protéine qui, chez l'Homme, est codée par le gène HHIPL1 sur le chromosome 14. Elle est composée d'un peptide signal en N-terminal, d'un domaine conservé HHIP-homologue (HIPH) de 18 résidus cystéine (Katoh and Katoh 2006).

Contrairement à HHIP suggéré comme étant un régulateur négatif de la voie de signalisation Hh, HHIPL1 (Hedgehog interacting protein like-1) paralogue d'HHIP est proposé comme étant un régulateur positif (Aravani et al. 2019). Les analyses in vitro suggèrent qu'HHIPL1 interagit avec le ligand SHH afin de promouvoir la signalisation Hh. In vivo, dans un modèle murin d'athérosclérose (*ApoE*^{-/-} et *Ldlr*^{-/-}) cette association serait délétère et favoriserait le développement de plaques d'athérome en régulant la prolifération et la migration des CML. Une délétion d'HHIPL1 a permis de réduire d'environ 50 % la présence de plaques d'athérome et de réduire la prolifération et la migration des CML (Aravani et al. 2019).

Contrairement à ce qui a été observé par Arvani et collaborateurs, les résultats obtenus dans le cadre de cette thèse suggèrent un rôle analogue d'HHIPL1 à HHIP. En effet, nos résultats qui seront discutés plus tard dans ce mémoire, suggèrent qu'HHIPL1 agit comme un régulateur négatif de la voie de signalisation médiée par DHH dans la CE.

Chez l'Homme, HHIPL1 semble également être impliqué dans des pathologies cardiovasculaires. En effet, dans la pathologie coronarienne, une étude GWAS (Genome Wide Association Studies) a impliqué le locus 14q32 du chromosome et il a été associé un polymorphisme de HHIPL1 (López-Mejías et al. 2017). L'existence d'un autre polymorphisme de ce gène a également été identifié après un infarctus du myocarde. Ce dernier a été notamment lié à une augmentation du risque d'événements cardiovasculaires en particulier (Rodríguez-Pérez et al. 2018).

e) Rôle de la voie Hh dans le système cardiovasculaire

La voie de signalisation Hh intervient dans la régulation de nombreux mécanismes nécessaires au bon fonctionnement du cœur dès le développement embryonnaire, mais également au maintien des propriétés du cardiomyocyte et de l'endothélium dans le système cardiovasculaire adulte (Candice Chapouly et al. 2019).

1. Voie Hh et cœur

a. Développement cardiaque

La signalisation Hh est proposée comme participant au développement du mésoderme (canal atrioventriculaire et oreillette commune) et du second champ cardiaque (ventricule droit et voie d'éjection) (Varjosalo and Taipale 2008; Goddeeris et al. 2008; Guzzetta et al. 2020). Elle permet entre autres de maintenir le statut de progéniteur et de réguler la prolifération des populations cellulaires de la crête neurale cardiaque et du second champ cardiaque (M.-H. Jeong et al. 2016; Dyer and Kirby 2009). Elle promeut également l'intégrité et l'organisation des protéines des jonctions gaps (Cx40 et Cx43). Ces protéines sont essentielles pour la propagation des potentiels d'action dans les parties ventriculaires distales (Dobrowolski et al. 2009; Diabougou et al. 2022; M.-H. Jeong et al. 2017).

SMO est l'acteur majeur de la voie Hh dans le développement embryonnaire. En effet, son inactivation conduit à la mort des embryons suite à des malformations septales auriculaires, des anomalies de l'éjection et à la formation d'un unique ventricule en raison de la perte de la protrusion mésenchymateuse dorsale (Hoffmann et al. 2009; Goddeeris et al. 2008; Washington Smoak et al. 2005; L. Xie et al. 2012; Briggs et al. 2016). Il a récemment été évoqué qu'une mutation de SMO lors du développement embryonnaire pourrait être impliquée dans l'étiologie des maladies cardiaques congénitales liées au système de conduction cardiaque et aux valves cardiaques (C. Zhang et al. 2021).

Les deux principaux ligands jouant un rôle dans le développement embryonnaire par l'intermédiaire de SMO sont IHH et SHH. En effet, leur perte combinée phénotypiquement celle de SMO et conduit à une létalité embryonnaire précoce chez le mammifère due à des défauts de morphogénèse cardiaque (tube cardiaque linéaire) (X. M. Zhang, Ramalho-Santos, and McMahon 2001). SHH permet également le développement des vaisseaux intra myocardiques et sous épocardiques en stimulant les facteurs de croissance (Lavine et al. 2006) permettant la croissance de l'artère coronaire et des veines coronaires respectivement (Lavine et al. 2008).

b. Cœur adulte

Certaines études soutiennent un effet bénéfique de l'activation de la voie Hh et plus particulièrement de son ligand SHH dans le cœur adulte. En effet, *in vivo*, il a été mis en évidence qu'une délétion de SMO dans les cardiomyocytes ou dans les cardiomyocytes et CML est associée à une cardiomégalie, une dilatation ventriculaire, une altération de la fonction systolique et une fibrose myocardique. La perte de la signalisation Hh myocardique a également conduit au développement d'une IC et la mort des animaux. Chez ces animaux, une rupture de la circulation coronaire et une hypoxie tissulaire étaient observées. Ces observations suggèrent que la signalisation Hh cardiomyocytaire est essentielle au maintien de la fonction cardiaque adulte (Lavine et al. 2008). Une partie des études confèrent également à la signalisation SHH/SMO un rôle bénéfique dans le contrôle de la fonction cardiaque, de l'apoptose cardiomyocytaire, de la densité capillaire et de la fibrose (Ghaleh et al. 2020; Paulis et al. 2015; Kusano et al. 2005; Carbe et al. 2014; Xiao et al. 2012).

D'autres études au contraire n'ont pas permis de confirmer l'importance de l'activation de la voie Hh par SHH dans le cœur adulte (Bijlsma et al. 2008; Paulis et al. 2015). L'activation de cette dernière pourrait même favoriser le développement d'arythmies en réduisant la sensibilité des cardiomyocytes au potassium et prolongeant la durée du potentiel d'action (L. Cheng et al. 2018). Notre équipe propose également que l'absence de SMO dans les cardiomyocytes induit aucune anomalie cardiaque (cf. Article ; supplemental figures).

2. Voie Hh et vaisseaux

Il a été mis en évidence pour la première fois en 2011 que la voie de signalisation Hh serait nécessaire au maintien de l'intégrité de la BHE chez l'embryon et chez l'adulte et que les CE sont les cellules médiatrices de ces effets (Alvarez et al. 2011). Plus précisément, il était suggéré que l'activation de la voie de signalisation Hh endothéliale diminuait la perméabilité de la BHE. Les effets bénéfiques observés chez l'embryon étaient dépendants du ligand SHH. Ce dernier favorisait notamment l'interaction entre la CDH5 et la β -caténine et stimulait l'expression des protéines de jonctions serrées (CLDN5, Occludine, JAM-A et ZO-1) (Mingxia Wang et al. 2014).

Plus tard, chez l'adulte, notre équipe a démontré que le ligand DHH endothélial est bénéfique pour l'intégrité de l'endothélium. Les effets bénéfiques sont dépendants du ligand DHH sous sa forme FL-Dhh. Ce ligand est produit par les CE elles-mêmes sous le contrôle de KLF2 (Krüppel-like Factor 2) (Caradu, Couffinal, et al. 2018a; Hollier et al. 2021). Ce ligand via son action sur la CE régule l'interaction de la β -caténine avec la CDH5, l'adhésion et l'infiltrat de cellules inflammatoires (Caradu et al. 2018; Mora et al. 2020; Chapouly et al. 2020).

Les ligands DHH et SHH sont tous deux proposés chez l'adulte comme pouvant participer à la régulation de l'angiogenèse et moduler la densité capillaire (Xiao et al. 2012; Caradu et al. 2018).

Il est également suggéré que la voie de signalisation Hh dépendante du ligand SHH joue un rôle dans la régulation de la vasomotricité dépendante de l'endothélium. Il est notamment proposé que SHH

améliore la vasorelaxation en favorisant l'expression de la NOS3 et en augmentant la production de NO (Benameur et al. 2010; Agouni et al. 2007; Bueno-Betí et al. 2019; Marrachelli et al. 2013).

3. Voie Hh et métabolisme

Plusieurs études suggèrent que la signalisation Hh joue un rôle dans la régulation du métabolisme lipidique et de la voie de l'insuline.

Il est suggéré que la leptine, en interagissant avec la voie Hh, peut moduler la répartition du tissu adipeux. La déficience en leptine (souris C57Bl6 ; ob/ob) est, en effet, associée à un défaut d'expression de SMO, de Gli-1/2 et de PTCH1 dans le foie (G. Xie et al. 2017).

Dans les péricytes, la carence en leptine provoquerait une inhibition de la signalisation Hh et renforcerait la différenciation du tissu adipeux blanc (G. Xie et al. 2017).

Dans les pré adipocytes au cours du développement, l'activation de PTCH1 ou de SMO a été associée à une inhibition du développement du tissu adipeux brun essentiel dans la survie des nouveau-nés et l'homéostasie énergétique de l'adulte (Nosavanh et al. 2015).

Chez l'adulte, la signalisation Hh interviendrait dans la régulation de la sécrétion d'insuline par les cellules β pancréatiques notamment via l'activation du facteur de transcription de l'insuline Pdx1 (Pancreatic and duodenal homeobox) (Hebrok et al. 2000; M. K. Thomas et al. 2000; 2001). Il est également proposé que SHH module négativement l'action de l'insuline en régulant l'activité et l'expression de PPAR- γ (Yao et al. 2019).

f) La voie Hedghog en contexte pathologique

Des perturbations de la voie Hh ont été identifiées dans un contexte pathologique ischémique, dans le diabète, le vieillissement, l'inflammation, les cancers ainsi que dans de nombreuses autres maladies ([tableau 13](#)).

Pathologie		Modulation de la voie Hh	
Ischémie (Infarctus du myocarde, ischémie du membre inférieur)		↗ SHH, PTCH1, GLI-1, GLI-2 et GLI-3	Cardiomyocytes
			Muscle squelettique Fibroblastes
DT2		↘ Pdx-1 ↗ SHH	Cellules β pancréatiques
			Macrophages Tissu adipeux
Diabète gestationnel		↗ HHIP	Epithélium rénal
Diabète de type 1		↘ SHH, PTCH1 et GLI	Tissus myocardiques
Vieillessement		↘ SMO ↘ DHH ↘ SMO ↘ SMO ↘ SHH ↘ SHH	Macrophages
			Muscle ischémique
			Hépatocytes
			Cellules souches neurales
			Cellules souches/progénitrices squelettiques
Neuro inflammation		↗ SHH ↘ DHH	Astrocyte
			CE
Pathologies rhumatismales	Polyarthrite rhumatoïde	↗ SHH, SMO, PTCH1, SMO, GLI	Sérum, tissu synovial, fibroblastes, chondrocytes, CE
	Arthrose	↗ GLI-1, PTCH1, IHH	Chondrocytes
	Spondylarthrite ankylosante	↗ SHH, PTCH1, PTCH2, GLI-1, GLI-2	Peau
	Syndrome de Sjögren	↗ IHH	Sérum

Tableau 13 : Modulations de la voie Hedgehog en contexte pathologique

1. Cancers

La voie Hh est principalement étudiée dans le cadre de la recherche de stratégies thérapeutiques dans la lutte contre les cancers où elle est dérégulée à la hausse (Scales and de Sauvage 2009; Gupta, Takebe, and LoRusso 2010). Une activation aberrante de la voie Hh serait responsable de plus d'un tiers des tumeurs malignes (Murone, Rosenthal, and de Sauvage 1999) :

– **Les mutations inactivant le récepteur PTCH1 ou activatrices de SMO** sont très présentes dans les carcinomes basocellulaires et le syndrome de Gorlin (H. Hahn et al. 1996; Uden et al. 1996; Sari et al. 2018). En l'absence de ligand Hh ces mutations induisent une activation constitutive de SMO ou l'absence d'inhibition par le récepteur PTCH1.

– **La libération abondante de ligand Hh autocrine/juxtacrine ou paracrine** (Thayer et al. 2003; Varnat et al. 2009; Mukherjee et al. 2006) a été observée dans le cadre de certains cancers du tube digestif (Berman et al. 2003), du colon (Varnat et al. 2009), de la prostate (Datta and Datta 2006; Fan et al. 2004), du foie (S. Huang et al. 2006), du sein (Kubo et al. 2004), de l'ovaire (Szkandera et al. 2013), du cerveau (Dahmane et al. 2001), du pancréas (Tian et al. 2009) et le mélanome (O'Reilly et al. 2013).

– **La surexpression ou stabilisation des facteurs de transcriptions à doigts de zinc (GLI-1)** régulant les processus de prolifération cellulaire, de détermination du destin cellulaire et de survie cellulaire **par des « drivers oncogéniques »** (NRAS, KRAS, SOX9, c-MYC) est observée dans de nombreux cancers (Pietrobono, Gagliardi, and Stecca 2019).

L'identification d'anomalies de la voie Hh dans un contexte pathologique et en particulier dans le cadre des cancers a permis le développement de diverses molécules (agonistes et antagonistes) ciblant ses différents acteurs ([tableau 14](#)).

	Cible	Molécule
Inhibiteurs	SMO	– Cyclopamine – Saridegib – IPI-926
	SMO (passage de la forme inactive à active)	– GDC-0449 ou Vismodegib (<i>Genentech/Curis</i>) – LDE225 & LEQ506 (<i>Novartis Pharmaceuticals</i>) – BMS-833923 ou XL-139 (<i>Bristol-Myers Squibb</i>) – PF-0449913 (<i>Pfizer</i>) LY2940680 (<i>Lilly</i>) – SANT74 et 75 (<i>Merck Chemicals</i>)
	SMO (Transport inactif du cytoplasme vers le cil primaire)	– SANT1 & SANT4 (<i>Merck Chemicals</i>)
	GLI (transcription)	– GANT58 & GANT61 (<i>Tocris Bioscience</i>)
	Fixation de SHH sur PTCH1	– Robotnikinin (<i>Harvard Scientists</i>)
Activateurs	SMO	– Dérivés du cholestérol et oxystérol – SAG – Purmorphamine – GSA-10 – Glucocorticoïdes fluorés de synthèse (halcinonide, fluticasone, clobétasol et fluocinonide)

Tableau 14 : Molécules ciblant la voie Hedgehog

2. Pathologies ischémiques

Il est évoqué une réactivation de la voie Hh (SHH) dans l'ischémie du membre inférieur (Pola et al. 2003; Palladino et al. 2011; M.-A. Renault et al. 2009) et dans l'infarctus du myocarde (Kusano et al. 2005; Bijlsma et al. 2008) (*tableau 13*). Cependant, Il est difficile de savoir si l'activation de la signalisation par SHH est bénéfique dans les pathologies ischémiques puisque les effets observés sont parfois contradictoires.

Plusieurs publications suggèrent que de l'administration de SHH (recombinante, plasmide humain, endogène) après une ischémie-reperfusion est bénéfique. En fonction des études, son administration

permettrait notamment de diminuer l'apoptose, la fibrose, et d'améliorer la fonction cardiomyocytaire et de favoriser l'angiogenèse (Ghaleh et al. 2020; Paulis et al. 2015; Kusano et al. 2005; Xiao et al. 2012). Ces données sont en accord avec le fait que son inhibition (SANT-1) altère la fonction cardiaque, augmente la taille de la zone infarctée, favorise l'hypoxie et réduit de la densité en capillaires coronaires (Xiao et al. 2012).

De manière similaire, **dans l'ischémie du membre inférieur, la réactivation de la voie par l'intermédiaire de SHH ou d'un agoniste de SMO (SAG) est également proposée comme étant bénéfique en augmentant la densité capillaire** (Caradu, Guy, et al. 2018; Benameur et al. 2010). La revascularisation et la reperfusion du muscle ischémique sont diminuées en présence d'un anticorps bloquant (5E1) (Pola et al. 2003).

Il est cependant nécessaire de préciser que les effets bénéfiques de SHH dans ce contexte pathologique sont controversés. En effet, Bijlsma et ses collaborateurs suggèrent qu'inhiber de la signalisation Hh (Cyclopamine) après une ischémie myocardique peut avoir effets bénéfiques sur la fonction ventriculaire et diminuer la fibrose (Bijlsma et al. 2008).

3. Diabète

Diverses études ont associé la voie de signalisation Hh au DT2, au diabète de type 1, au diabète gestationnel et à l'obésité (Benchoula, Parhar, and Wong 2021; Hassanpour et al. 2017) (*tableau 13*).

La dérégulation signalisation Hh a été associée comme pouvant être un facteur de risque au DT2 en réduisant de l'expression du facteur de transcription Pdx1 (M. K. Thomas et al. 2000; Lau, Kawahira, and Hebrok 2006). Dans un modèle murin diabétique et obèse, l'inhibition de la voie de signalisation Hh dans les cellules myéloïdes a provoqué une prise de poids, une intolérance au glucose une résistance à l'insuline et l'augmentation de l'infiltrat inflammatoire dans le tissu adipeux (J. Braune et al. 2017). Il est proposé que l'hyperglycémie en l'inhibant la signalisation SHH favoriserait notamment la réponse inflammatoire et la synthèse d'ERO (diminution de superoxyde dismutase et catalase) (N. Song et al. 2018; R.-Y. Zhang et al. 2018). Song et collaborateurs suggèrent également que SHH stimulerait la polarisation des macrophages par une signalisation Hh dépendante de la PI3K et diminuerait la sensibilité à l'insuline des adipocytes (M. Song et al. 2018) (*figure 44*).

En revanche, ces résultats sont contrastés puisque les souris hétérozygotes Ptch1 (Ptch1+/-) ayant une signalisation Hh augmentée, développent une intolérance au glucose (Hebrok et al. 2000).

La voie de signalisation Hh a été rapportée dans de nombreuses études comme pouvant être modulée par le diabète gestationnel (Vaux et al. 2005; X.-P. Zhao et al. 2014). Il a été démontré que le diabète gestationnel régule négativement la voie Hh en augmentant l'expression de HHIP. En revanche, cette augmentation est abolie en surexprimant Pax2 (Paired box 2) (X.-P. Zhao et al. 2014).

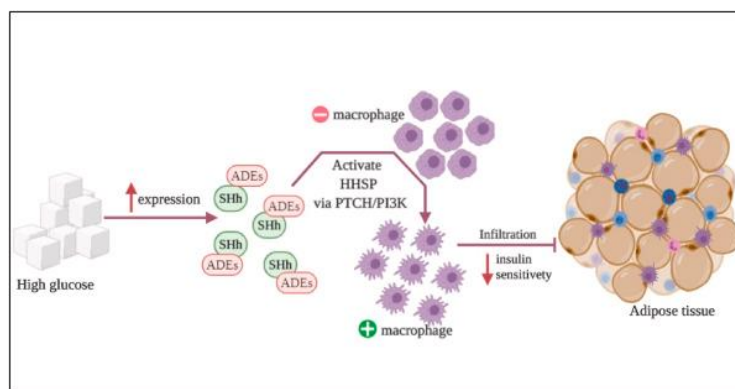


Figure 44 : Induction de la sensibilité à l'insuline dans le tissu adipeux via la voie Hh

Benchoula, Parhar, and Wong 2021. L'hyperglycémie augmente l'expression des ADE, qui transportent SHh pour activer les macrophages via PTCH/PI3K, ce qui entraîne une infiltration des macrophages et une diminution de la sensibilité à l'insuline. SHH, sonic hedgehog; ADEs, exosomes dérivés d'adipocytes positifs à SHh ; PTCH, patched; PI3K, Phosphatidyl inositol 3 - kinase.

Dans le cadre du diabète de type 1 induit expérimentalement par streptozotocine, l'altération de la voie Hh (diminution de SHH, PTCH1 et GLI) a été associée au développement d'une dysfonction diastolique. Le développement de cette dernière est prévenu par un traitement avec un agoniste de SMO (SAG) (Xiao et al. 2012).

L'altération de la voie de signalisation Hh induite par l'hyperglycémie est également retrouvée dans les complications liées au diabète, telles que la néphropathie diabétique (Kim et al. 2017; X.-P. Zhao et al. 2018), la rétinopathie diabétique (J. Zhang et al. 2018), les ulcères du pied (Gao et al. 2018), la réparation osseuse (Tevlin et al. 2017; Lu et al. 2003), la cicatrisation des plaies (Tevlin et al. 2017), la neuropathie diabétique (Candice Chapouly et al. 2016; Calcutt et al. 2003) et les complications cardiovasculaires (Xiao et al. 2012)

4. Vieillesse

Il est proposé que l'âge diminue l'expression du ligand DHH et du corécepteur SMO et leurs propriétés pro angiogéniques dans le muscle ischémié (Palladino et al. 2011; M.-A. Renault et al. 2013) (tableau 13). Le rétablissement de la signalisation Hh permet d'augmenter la densité capillaire et d'améliorer la perfusion dans le muscle (Pola et al. 2001; Palladino et al. 2011; M. A. Renault et al. 2013; M.-A. Renault et al. 2013).

Il est évoqué à partir d'analyses in vitro et in vivo qu'un défaut de signalisation Hh dans les macrophages résidents pourrait être responsable en partie de l'inflammation de bas grade observée chez les individus âgés (Babagana et al. 2021). L'inflammation systémique de bas grade contribue au développement de nombreuses pathologies dont l'ICFEP.

Avec le vieillissement, une diminution de la signalisation Hh a été mise en évidence comme pouvant altérer le processus de régénération hépatocytaire (Maeso-Díaz et al. 2022) dans lequel elle est impliquée (Ochoa et al. 2010; M. Swiderska-Syn et al. 2014; Marzena Swiderska-Syn et al. 2016) (tableau 13).

Il est suggéré que l'expression de SHH dans les cellules souches neurales est nécessaire au maintien de la neurogenèse au cours du vieillissement (W. Cheng et al. 2015). Un défaut de la

signalisation SHH abolit les fonctions précédentes et augmente les troubles comportementaux anxieux chez les animaux âgés (J. Wang et al. 2022) (*tableau 13*). De manière cohérente avec les résultats précédents, il a récemment été proposé qu'une dérégulation de la signalisation SHH/SMO par un stress oxydant pourrait participer à la pathogenèse des maladies neurodégénératives telles que la maladie d'Alzheimer, de Parkinson et d'Huntington (Prajapati, Mehan, and Khan 2023).

Enfin, de faibles niveaux de SHH ont été associés à une altération de l'ostéogenèse et au développement de l'ostéoporose au cours du vieillissement (Liwei Zhang et al. 2022).

5. Inflammation

L'expression du ligand DHH est diminuée en réponse aux cytokines inflammatoires (Caradu, Couffinhal, et al. 2018), **dans la neuro-inflammation** (Hollier et al. 2021) induite par **l'encéphalomyélite auto-immune expérimentale** (Mora et al. 2020). Au contraire, l'expression de SHH est proposée comme étant augmentée dans les astrocytes activés dans un contexte de neuro-inflammation comme la sclérose en plaques (Alvarez et al. 2011) (*tableau 13*).

Alvarez et collaborateurs suggèrent que l'expression de SHH agirait de manière paracrine sur les CE et participerait au maintien de l'intégrité des jonctions endothéliales serrées dans la barrière hématoencéphalique (BHE) (Y. Wang et al. 2014; Alvarez et al. 2011). L'expression du ligand SHH est également modulée dans de nombreuses pathologies ayant une perméabilité accrue telles que l'AVC et l'hémorragie sous-arachnoïdienne (Chechneva et al. 2014; Mastronardi et al. 2003; Yanan Li et al. 2013; Alvarez et al. 2011; Bambakidis et al. 2012; Y. Jin et al. 2015).

Les résultats démontrant le rôle bénéfique de SHH astrocytaire sur la BHE sont controversés. En effet, il est suggéré que le maintien de l'intégrité de la BHE n'est pas lié à la sécrétion de SHH astrocytaire, mais plutôt lié à la sécrétion de manière autocrine du ligand DHH par les CE (Hollier et al. 2021). La forme FL-DHH sécrétée de manière endogène par la CE induit des effets pro-angiogéniques opposés au ligand SHH (déstabilisation des jonctions serrées et augmentation de la perméabilité) et promeut l'intégrité de la BHE.

Dans l'ensemble des pathologies rhumatismales (polyarthrite rhumatoïde, arthrose, sclérose systémique, spondylarthrite ankylosante, le syndrome de Sjögren), la signalisation Hh dépendante de SHH et de IHH semble surexprimée par rapport aux individus contrôles (*tableau 13*). Le blocage de cet axe pathogène en tant que cible thérapeutique est à l'étude (Su et al. 2022).

g) Conclusion

Les études sur la fonction de la voie Hh dans le système cardiovasculaire se sont majoritairement concentrées sur les effets du ligand SHH. Il est parfois difficile d'associer les effets à l'un des acteurs de cette voie de signalisation étant donné qu'il existe des résultats contradictoires dans la littérature à ce sujet. Dans la CE, la voie de signalisation Hh agit de manière autocrine et est dépendante des effets du ligand DHH, mais les mécanismes restent encore incompris à l'heure actuelle.

II. OBJECTIF/RATIONNEL

L'ICFEP est une pathologie hétérogène dans sa présentation et sa physiopathologie. Jusqu'à présent, hormis les inhibiteurs du SGLT2, aucun traitement utilisé dans l'ICFEP n'a permis d'améliorer de manière significative la survie de ces patients (Redfield and Borlaug 2023; Henning 2020).

Afin de palier à l'hétérogénéité phénotypique de l'ICFEP, différentes études de stratification des patients ont permis d'identifier plusieurs sous-types de populations dont la pertinence clinique doit être encore évaluée : « métabolique, obèse », « vieillissement vasculaire » et « relativement jeune avec un déficit en peptides natriurétiques » (Peters et al. 2022; J. B. Cohen et al. 2020; Sabbah et al. 2020; Hedman et al. 2020). Malgré cette possible stratification des patients et de nombreuses études cliniques et précliniques, la physiopathologie de l'ICFEP reste encore incomprise. Des observations cliniques montrent la présence d'une dysfonction endothéliale microvasculaire coronaire chez les patients atteints d'ICFEP, notamment une perte de réserve de flux coronaire (S. J. Shah et al. 2018b; Kato et al. 2016), un œdème (Fischer et al. 2022), une raréfaction microvasculaire (Mohammed et al. 2015) et une activation endothéliale (Franssen et al. 2016a) chez 75% des patients. La forte prévalence de la dysfonction endothéliale microvasculaire a conduit Paulus et ses collaborateurs à établir un paradigme suggérant que cette dernière pourrait être à l'origine de la dysfonction diastolique. En revanche, il n'existe pas de preuves directes, mais seulement des associations reliant la dysfonction endothéliale à la physiopathologie de l'ICFEP. Dans ce paradigme, il est notamment suggéré un rôle important de la perte de biodisponibilité du NO dans la dysfonction diastolique. Cependant, cette implication est remise en question puisque les modèles murins délétés pour la NOS3 ne développent pas systématiquement de dysfonction diastolique (Tsutsui et al. 2015; Ebner et al. 2017) et les essais thérapeutiques ciblant la voie de signalisation du NO dans l'ICFEP ont jusqu'à présent été un échec (Borlaug et al. 2018; Redfield et al. 2015). Cependant, il a été démontré que le KO (Maizel et al. 2014b; X. He et al. 2017) ou la surexpression d'un gène (Dhot et al. 2020; Abelanet et al. 2022) altérant les propriétés de l'endothélium était suffisante pour induire une dysfonction diastolique confortant le paradigme de Paulus.

L'objectif général de ce projet de thèse consiste à déterminer si la dysfonction endothéliale en particulier dans le phénotype « métabolique, obèse » ou diabétique et obèse participe à la physiopathologie de l'ICFEP. Plus précisément, mes objectifs sont les suivants :

1/ Identifier de nouveaux acteurs moléculaires de la dysfonction endothéliale associés/induits par le diabète qui pourraient participer à la physiopathologie de la dysfonction diastolique

2/ Identifier les mécanismes par lesquels la dysfonction endothéliale induit la dysfonction diastolique

De plus, l'avancée de ce projet de thèse nous a conduits à identifier un phénotype prothrombotique des CE comme potentiellement impliqué dans la physiopathologie de la dysfonction diastolique. Nous nous sommes donc intéressés à :

3/ Identifier le rôle de la microthrombose coronaire dans l'ICFEP

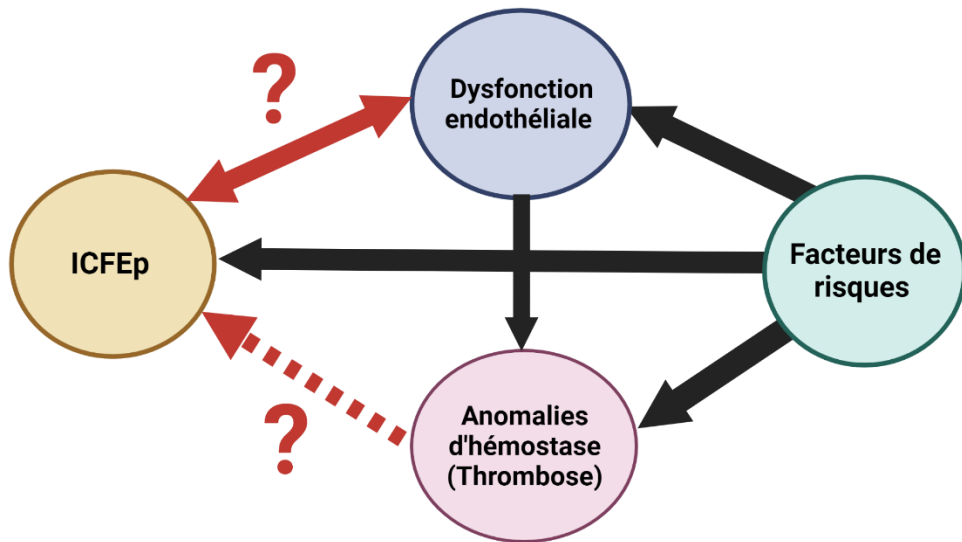


Figure 45 : Rationnel du projet de thèse

Le projet de thèse est à l'interface entre dysfonction endothéliale et troubles hémostatiques dans l'ICFep. Flèches noires : corrélations avec preuves de la littérature ; flèches rouges : corrélations auxquelles ce projet essaye de répondre.

III. MATÉRIELS ET MÉTHODES

1) Modèles murins diabétiques

a) $Lepr^{db/db}$

Ces souris dérivent de la mutation « db » découverte par Coleman et Hummel en 1967 (Hummel, Coleman, and Lane 1972). Il s'agit d'une mutation autosomique récessive spontanée consistant au remplacement d'une guanidine par une thymidine dans le gène codant pour le récepteur à la leptine *Lepr* situé sur le chromosome 4. Cette dernière va créer un site d'épissage anormal qui conduit à l'insertion de 106 nucléotides dans le transcrite provoquant la perte de fonction du signal de transduction induit par le récepteur à la leptine. Ces souris obtenues au Charles River laboratories ont un fond génétique C57BL/KsJ. Lorsqu'elles sont homozygotes $Lepr^{db/db}$ elles sont hyperphagiques et deviennent obèses. Cela contribue au développement d'une hyperglycémie, hyperinsulinémie et une insulino-résistance dans les premiers mois de vie des animaux. Plus tard, ces souris développent une hypo-insulinémie associée à une hyperglycémie avec un pic entre 3 et 4 mois. Enfin, elles présentent les caractéristiques d'une dysfonction diastolique (élévation de pression télédiastolique) à partir de 3 mois (Guimbal et al. 2021). Ces souris à l'état homozygote $Lepr^{db/db}$ sont infertiles (Lindström 2007). Des souris $Lepr^{db/+}$ sont croisées entre elles de façon à obtenir dans une même portée des souris $Lepr^{db/db}$ et leur contrôle $Lepr^{db/+}$. Les souris sont phénotypées par leur poids et leur couleur. Les souris $Lepr^{+/+}$ sont de couleur grise, les souris hétérozygotes $Lepr^{db/+}$ sont noires, non-obèses et non-diabétiques et les souris $Lepr^{db/db}$ sont noires et obèses.

Pour ce projet de thèse, nous avons utilisé des souris femelles $Lepr^{db/db}$ et leur contrôle $Lepr^{db/+}$ âgées de 3 mois à 6 mois.

b) Régime HFD/STZ

Les souris mâles et femelles ovariectomisées ont été soumises à un régime riche en graisses (60 %) (HFD, 260 HF, U8978A01R 00019, Safe) pendant 12 semaines, dès l'âge de 8 semaines (figure 46). Le régime HFD induit une insulino-résistance et une obésité. Ensuite, un diabète de type 2 a été induit à 12 semaines par l'intermédiaire d'injections de streptozotocine à faible dose (STZ). La STZ a été injectée à une dose de 40 mg/kg/jour en intrapéritonéal pendant 4 jours consécutifs après un jeûne de 4 h (Furman 2021; King 2012) (figure 46). Ces injections répétées de STZ ont pour but d'induire la nécrose des cellules β des îlots Langerhans et d'induire à terme une hyperglycémie (Reed et al. 2000; Ming Zhang et al. 2008). Ce régime HFD/STZ a déjà été mis en évidence dans un modèle de rat comme pouvant favoriser la survenue d'une dysfonction diastolique (Epp et al. 2013).

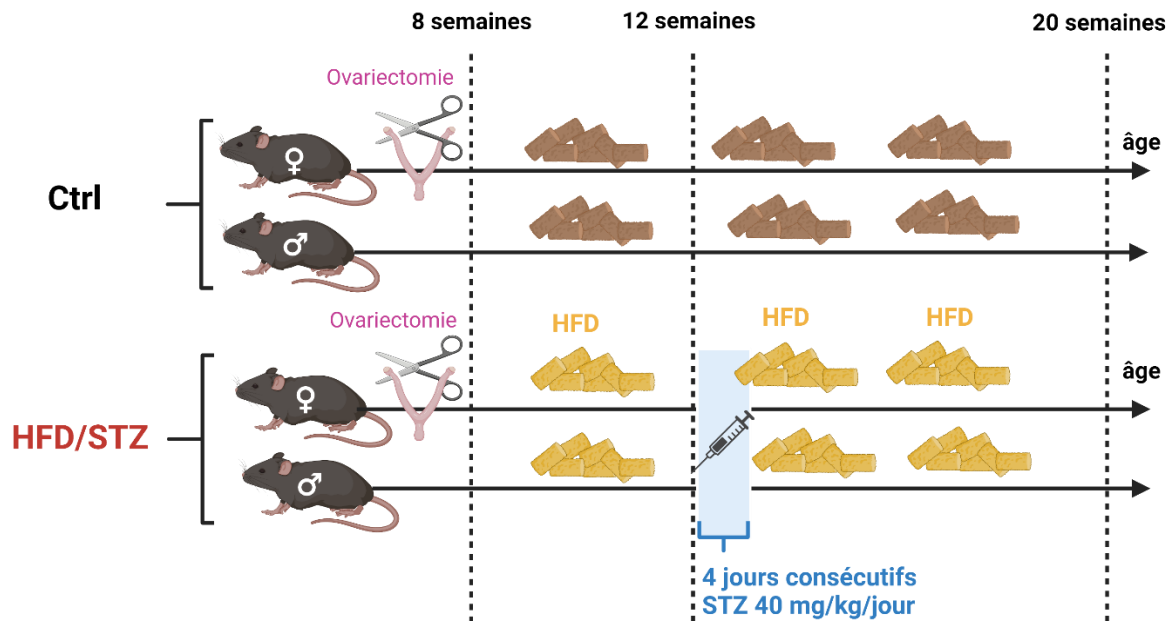


Figure 46 : Protocole d'induction d'un DT2 par régime HFD/STZ

2) Souris transgéniques pour la voie Hedgehog

a) Souris déficientes pour DHH (Dhh^{ECKO})

Les souris $Dhh^{flox/+}$ ont été générées par l'Institut Clinique de la Souris via le consortium international de phénotypage de souris à partir d'un vecteur généré par l'European conditional mice mutagenesis program, EUCOMM. Les exons 2 et 3 du gène *Dhh* sont flanqués par des séquences loxP dans le même sens. Ces souris ont été génotypées avec les amorces : 5'-TGGGTGTTCTTACAATCCGC-3' et 5'-CAACCACTGGACCGAAGGAGGAA-3' qui amplifient un fragment de 375 paires de bases de l'allèle sauvage ou un fragment de 428 paires de bases si l'allèle est flox/flox.

Nous avons obtenu les souris $Cdh5-Cre^{ER/T2}$ exprimant la CRE-recombinase sous le contrôle du promoteur de la Cadhérine 5 au laboratoire de R.H. Adams. Ces souris ont été génotypées avec les amorces : 5'-TAAAGATATCTCACGTACTGACGGTG-3' et 5'-TCTCTGACCAGAGTCATCCTTAGC-3' amplifiant 493 paires de base de la séquence Cre recombinase.

Par croisements successifs de ces deux lignées, les souris Dhh^{ECKO} ($Cdh5-CreER/T2$; $Dhh^{flox/flox}$) et les souris contrôles ou $Dhh^{flox/flox}$ sont obtenues (figure 47). L'activation de la CRE-recombinase a été réalisée chez les souris adultes par injection intrapéritonéale de tamoxifène pendant 5 jours consécutifs.

Les souris mâles et femelles utilisées en proportion équivalentes dans cette thèse ont été phénotypées 1 mois après injection au tamoxifène soit à 12 semaines d'âge.

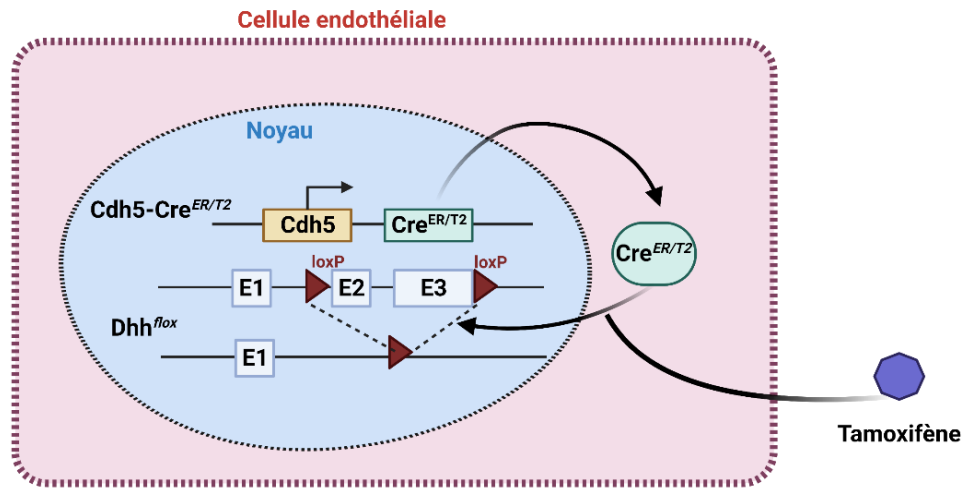


Figure 47 : Construction génétique des souris *Dhh*^{ECKO}

b) Souris déficientes pour SMO (*Smo*^{ECKO})

Les Souris *Smo^{lox/+}* (Jackson laboratories) ont été modifiées génétiquement afin que l'exon 1 de *Smo* soit encadré par des séquences loxP (figure 48). De manière similaire à ce qui a été réalisé pour la construction des souris *Dhh^{ECKO}*, ces souris ont été croisées avec les souris *Cadh5-Cre^{ER/T2}* afin d'obtenir des *Smo^{ECKO}* (*Cdh5-Cre^{ER/T2}* ; *Smo^{lox/lox}*) et les souris contrôles ou *Smo^{lox/lox}*.

Une proportion équivalente de mâles et de femelles a été utilisée 4 semaines après injection de tamoxifène (1mg/jours pendant 5 jours) (souris sacrifiées à 12 semaines).

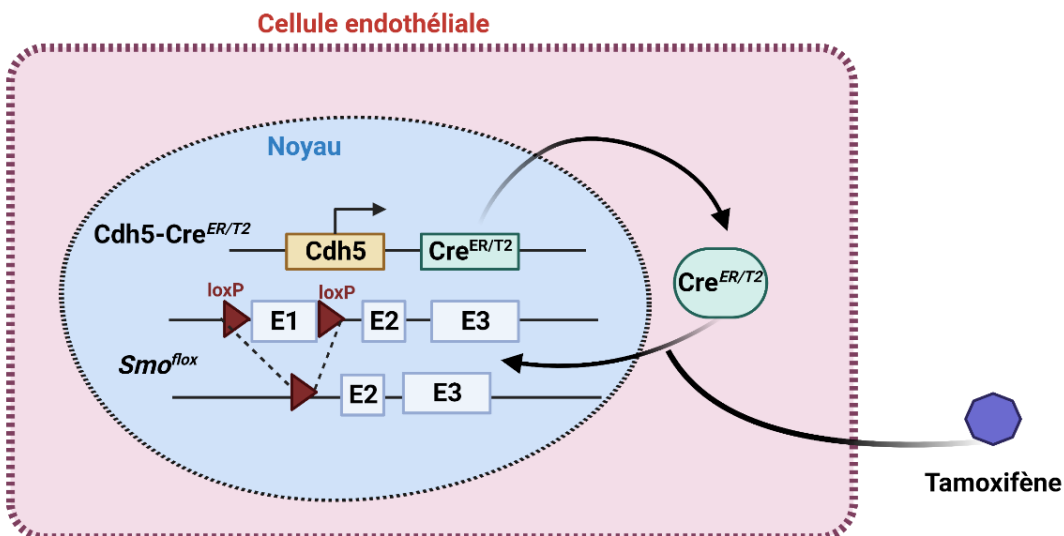


Figure 48 : Construction génétique des souris *Smo*^{ECKO}

c) Souris déficientes pour SMO dans les cardiomyocytes (SMO^{CMKO})

Les souris SMO^{fllox/+} similaires avec celles utilisées pour la construction SMO^{CEKO} ont été croisées avec des souris Tg (Myh6-cre/Esr1*)1Jmk/J, (Myh6-Cre/ESR1) obtenues au Jackson Laboratories afin d'obtenir des souris SMO^{CMKO} (Myh6-Cre/ESR1 ; Smo^{fllox/fllox}) et les souris contrôles ou Smo^{fllox/fllox}. Ces souris expriment la CRE-recombinase inducible sous le contrôle du promoteur de la chaîne lourde de l' α -myosine cardiomyocytaire (figure 49).

Une proportion équivalente de mâles et de femelles a été utilisée 1 mois après injection de tamoxifène (1mg) 5 jours consécutifs.

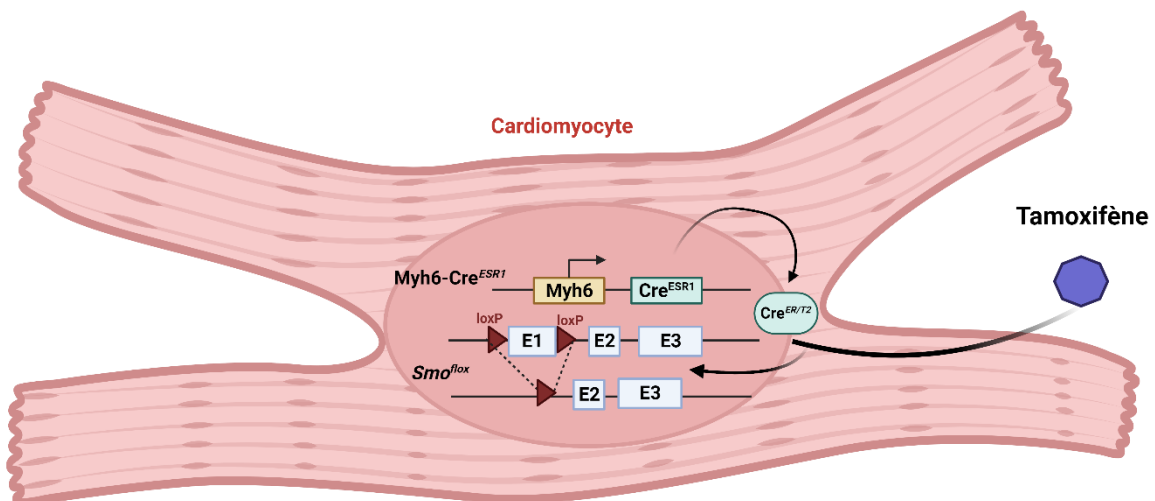


Figure 49 : Construction génétique des souris Smo^{CMKO}

d) Souris déficientes pour Hhip1

Les animaux Hhip1-LacZ (Hhip1^{tm1a(KOMP)Wtsi}) ont été obtenus en collaboration avec Tom R Webb. Ces souris possèdent une modification génétique du gène Hhip1 localisé sur le chromosome 12. Cette construction génétique comprend une cassette LacZ, deux sites FRT et 3 sites loxP (figure 50).

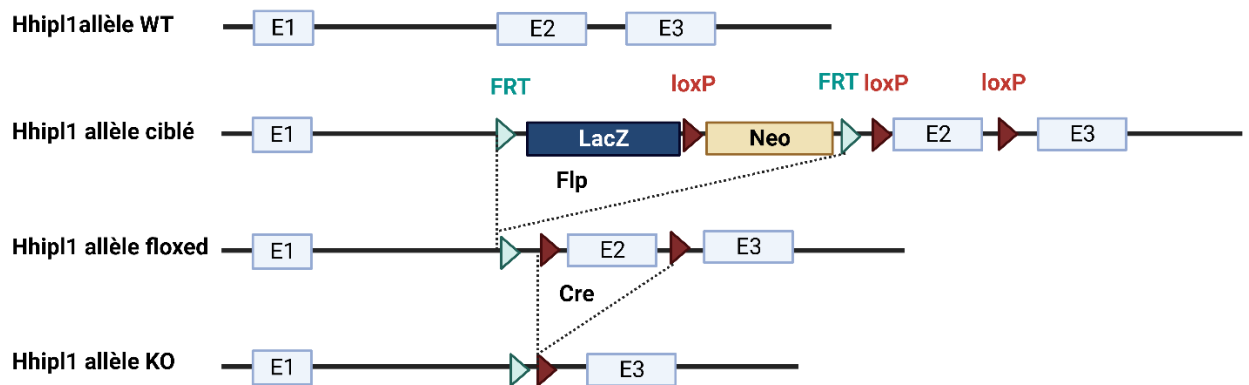


Figure 50 : Construction génétique de la souris Hhip1-KO

Nous avons utilisé ces souris KO constitutives pour Hhip1 ($Hhip1^{LacZ/LacZ}$) et leur contrôle ($Hhip1^{+/+}$) dans des proportions équivalentes de mâles et de femelles et les avons sacrifiés à 20 semaines afin de localiser dans quels types Hhip1 est exprimé en conditions de DT2 (protocole d'induction du DT2 détaillé dans la partie intitulée souris diabétique) (figure 47).

3) Hébergement

Les souris sont hébergées en animalerie conventionnelle avec une photopériode de 12h, en cages communes sur portoirs ventilés. Les animaux ont accès à de l'enrichissement, à de l'eau et à de la nourriture *ad libitum*, en accord avec les protocoles internationaux d'hébergement des animaux de laboratoire. L'ensemble des expériences réalisées est conforme aux directives 2010/63/EU du Parlement européen sur la protection des animaux utilisés à des fins scientifiques et a été approuvé par le Comité d'éthique en expérimentation animale de l'université de bordeaux et le ministère de la recherche.

4) Thérapie antiagrégante

Afin de démontrer le rôle de la thrombose dans le développement de la dysfonction diastolique dans les modèles murins les avons traités ou non à l'aide de deux thérapies antiagrégantes pendant 4 semaines. avec de l'aspirine (25 mg/kg/jour) (Kardegic®, Sanofi) ou de clopidogrel (5 mg/kg/jour) (Arrow Génériques) (Ni et al. 2018; Seidel et al. 2009) dans l'eau de boisson.

5) Mesure de la fonction cardiaque

L'ensemble des tests réalisés afin d'étudier de la fonction cardiaque des animaux transgéniques et diabétiques sont détaillés dans l'article.

a) Test d'effort des souris *Lepr^{db/db}*

Il n'existait à notre connaissance encore aucun test permettant d'évaluer la tolérance à l'effort des souris *Lepr^{db/db}*. Avant les expériences sur tapis roulant, les souris ont été habituées à être manipulées afin de réduire leur anxiété. Ensuite, les animaux ont été familiarisés avec la course sur le tapis roulant (tapis roulant à 6 couloirs, UGO BASILE S.R.L, Italie) pendant 3 jours :

– le premier jour, les souris se sont entraînées pendant des séances de course de 12 minutes à vitesse constante de 5 m/minutes à une inclinaison de 0°.

– Les deuxième et troisième jour, les souris ont été entraînées pendant des séances de course de 18 minutes, en augmentant progressivement la vitesse jusqu'à un maximum de 9 m/minutes à une inclinaison de 0°.

Après 3 jours d'entraînement sur tapis roulant et un jour de pause, des tests d'épuisement et de fatigue ont été effectués. La pente est fixée à 0° d'inclinaison. Dans un premier temps, la vitesse augmente graduellement pendant 6 minutes de 3 m/minutes pour atteindre 5 m/minutes. Ensuite la vitesse a été augmentée progressivement par différents paliers (*tableau 14*) afin d'atteindre après 55 minutes de test 14 m/minutes. L'épuisement est défini par l'incapacité de la souris à rester hors de la grille électrifiée pendant 10 secondes.

Temps (min)	Vitesse (m/min)
0	3
6	5
16	7
32	9
38	11
55	14

Tableau 15 : Protocole du test d'effort pour souris *Lepr^{db/db}*

6) Coloration histologique au bleu de toluidine

La densité en mastocytes et leur dégranulation a été quantifiée après un marquage au bleu de Toluidine. Les cœurs ont été préalablement fixés au méthanol pendant un minimum de 24 heures avant d'être inclus en paraffine. Après déparaffinage, les coupes transversales de cœur ont été colorées pendant 3 minutes dans une solution de bleu de toluidine (Sigma) à 1 % dans de l'éthanol à 70 %. Après rinçage à l'eau distillée, les mastocytes ont été quantifiés sur l'ensemble de la coupe et les résultats exprimés en pourcentage de mastocytes activés par rapport aux mastocytes totaux.

IV. RESULTATS

1) Identification de nouveaux acteurs de la dysfonction endothéliale dans le cœur des souris $Lepr^{db/db}$

Lors de travaux précédents, nous avons déjà démontré qu'à partir de 3 mois les souris $Lepr^{db/db}$ obèses et diabétiques développent une dysfonction diastolique (augmentation de pression télédiastolique) associée à une dysfonction endothéliale (fuite vasculaire, activation des CE) (Guimbal et al. 2021). Pour aller plus loin et identifier de nouveaux acteurs de la dysfonction endothéliale pouvant jouer un rôle causal dans la dysfonction diastolique (*figure 42*), nous avons isolé les CE cardiaques par tri magnétique et avons réalisé une analyse par séquençage d'ARN. Les résultats de cette analyse, nous ont montrés que l'expression de 385 gènes était augmentée et que celle de 89 était diminuée par rapport aux contrôles $Lepr^{db/+}$. Les processus biologiques les plus fortement augmentés étaient associés à l'inflammation et à la coagulation sanguine. Parmi ces différences d'expression, l'augmentation de l'expression génique d'HHIPL1 a particulièrement retenu notre attention. En effet, ce gène code pour un récepteur leurre (HHIPL1) aux ligands de la voie de signalisation Hh dont nous avons démontré précédemment le rôle essentiel pour le maintien de l'intégrité de la CE (Candice Chapouly et al. 2019; Hollier et al. 2021; Caradu, Couffinhal, et al. 2018).

2) Rôle d'Hhipl1 dans le cœur

Dans le but de mesurer les conséquences d'une augmentation de l'expression d'Hhipl1 dans le cœur des souris $Lepr^{db/db}$, nous avons cherché à développer un modèle murin avec un DT2 et une obésité similaire aux $Lepr^{db/db}$ dans lequel nous pourrions effectuer ensuite une modification génétique d'HHIPL1. Nous avons opté pour un régime HFD combiné à des injections répétées de STZ à faible dose décrit dans la littérature comme induisant un DT2 (Furman 2021; King 2012) et une dysfonction diastolique chez le rat (Epp et al. 2013).

Dans un premier temps, les souris femelles ont été ovariectomisées à 7 semaines afin de reproduire la diminution des niveaux d'œstrogène des souris $Lepr^{db/db}$ (de Luca et al. 2005; Garris et al. 2005). Ensuite, afin de provoquer une insulino-résistance et une obésité les souris ont été soumises pendant 12 semaines dès l'âge de 8 semaines à un régime HFD. Ensuite, le DT2 a été induit à 12 semaines par l'intermédiaire d'une injection intrapéritonéale quotidienne pendant 4 jours de STZ (40 mg/kg) après un jeûne (4 heures) à la suite de la nécrose des cellules β pancréatiques.

Nous avons tout d'abord vérifié que les souris HFD/STZ développent une hyperglycémie (glycémie > 2 g/L) par rapport aux souris non soumises au régime (*figure 51 ; A*). Ensuite, à l'aide de souris Hhip1-LacZ nous avons mis en évidence que l'expression d'Hhip1 était augmentée en condition de diabète (HFD/STZ) dans les cellules périvasculaires, très probablement fibroblastiques (*résultat détaillé dans l'article*)

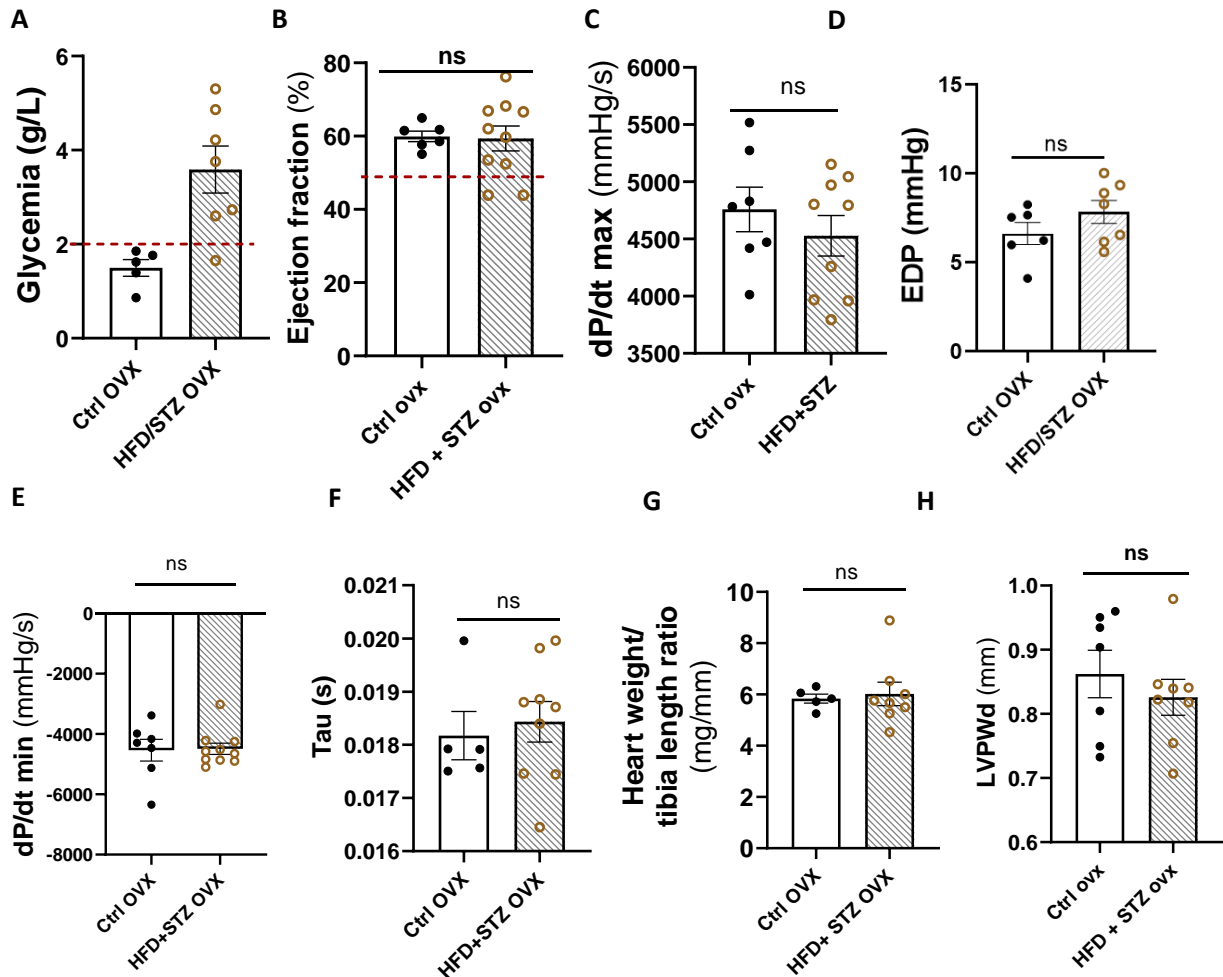


Figure 51 : Fonction cardiaque souris femelles sous régime HFD/STZ.

Les souris femelles ovariectomisés (OVX) ne développent pas de dysfonction diastolique après régime HFD /STZ. (A) Valeur de glycémie (n = 5 à 8 souris par groupe) (B) La fraction d'éjection a été évaluée par échocardiographie (n = 6 à 8 souris par groupe). (C) Le dP/dt maximal a été mesuré par cathétérisme ventriculaire gauche (n = 6 à 8 souris par groupe). (D) La pression diastolique finale du ventricule gauche (EDP) a été mesurée par cathétérisme ventriculaire gauche (n = 6 à 8 souris par groupe). (E) Le dp/dt min a été mesuré par cathétérisme ventriculaire gauche (n = 6 à 8 souris par groupe). (F) La constante de relaxation Tau a été mesurée par cathétérisme ventriculaire gauche (n=5 à 8 souris par groupe) (G) Le ratio poids du cœur sur longueur du tibia a été calculé (n = 5 à 8 souris par groupe). (H) L'épaisseur de la paroi postérieure du ventricule gauche en diastole (LVPWd) a été mesurée par échocardiographie (n=8 souris par groupe). ns : non significatif ; test de Mann-Whitney.

Nous nous sommes ensuite demandé si l'augmentation d'expression d'Hhip1 induite par le diabète a des répercussions sur le phénotype cardiaque. Les données préliminaires obtenues à partir des analyses fonctionnelles cardiaques suggèrent que le régime HFD/STZ n'est pas suffisant pour induire une dysfonction diastolique. En effet, nous n'avons observé ni augmentation de pression télédiastolique (*figure 51 ; D*), ni altération des paramètres de relaxation active (*figure 51 ; E-F*), ni hypertrophie (*figure 51 ; G-H*), après régime HFD/STZ. Nous n'avons observé aucune modulation de la fonction systolique (FEVG et dp/dt max) non plus (*figure 51 ; B-C*). Dans ce contexte, nous n'avons pas pu déterminer les conséquences de la déplétion d'Hhip1 sur la dysfonction diastolique.

Pour approfondir les mécanismes moléculaires, nous avons fait l'hypothèse que la surexpression de Hhip1 équivaldrait à un KO de DHH endothélial. Ce dernier étant le principal ligand Hh dans le cœur et exprimé essentiellement par les CE, nous avons mesuré les conséquences d'un KO endothélial de Dhh (Dhh^{ECKO}) sur la fonction cardiaque, le remodelage cardiaque, le phénotype des vaisseaux et le phénotype des cardiomyocytes. Ce modèle murin Dhh^{ECKO} nous a permis d'investiguer de manière isolée, un potentiel défaut de signalisation induit par Hhip1 en l'absence des autres facteurs : diabète et dyslipidémie.

3) Impact d'un défaut de DHH sur les vaisseaux coronaires, les cardiomyocytes et la fonction cardiaque

a) Impact d'un défaut de DHH sur la fonction cardiaque

Tout d'abord, nous nous sommes demandé si un défaut induit de cette signalisation avait un effet sur la fonction cardiaque. Nous avons montré que les souris Dhh^{ECKO} âgées de 12 semaines présentent les caractéristiques d'une intolérance à l'effort associée à une dysfonction diastolique caractérisée par une augmentation de la pression télédiastolique, du dp/dt min et de Tau (*résultats détaillés dans l'article*). Ces résultats mettent en évidence que le KO inductible d'un gène dans les CE est capable d'induire la survenue d'une dysfonction diastolique. Nous avons ensuite voulu identifier les mécanismes responsables de la survenue de la dysfonction diastolique dans ce modèle murin.

b) Impact d'un défaut de DHH sur le phénotype vasculaire

Connaissant le rôle du ligand DHH dans l'intégrité endothéliale, nous avons ensuite observé l'impact d'un défaut de ce ligand dans les CE sur le phénotype des vaisseaux des souris Dhh^{ECKO} (*résultats détaillés dans l'article*). Les souris Dhh^{ECKO} développent une dysfonction microvasculaire coronaire avec notamment une augmentation de la perméabilité aux protéines plasmatiques, et de la fibrose périvasculaire. De plus, nous avons observé une accumulation du nombre de plaquettes dans le cœur associé à une augmentation du nombre thrombus dans les capillaires coronaires des Dhh^{ECKO} . Nous avons ensuite démontré que ce processus altérant la perfusion d'environ 10 % des capillaires est lié à une augmentation de la sécrétion du vWF à la surface des CE. Enfin, cette perte de perfusion provoque une hypoxie locale myocardique.

c) Impact du défaut de DHH sur le phénotype des cardiomyocytes

Pour approfondir les mécanismes par lesquels l'absence du ligand endothélial est capable de provoquer une dysfonction diastolique, nous avons phénotypé les cardiomyocytes (*résultats détaillés dans l'article*). Aucune hypertrophie n'est observée, en revanche la perte de DHH a perturbé la formation des myofilaments du sarcomère (diminution de Myh7, augmentation Acta1) et de la titine (augmentation du ratio N2BA/N2B et des ARNm de Titin-Cap [Tcap]). De manière cohérente avec le défaut de relaxation observé par cathétérisme du VG (augmentation de dp/dt min et Tau) et en ex vivo (diminution de vitesse de relaxation), nous avons mis en évidence que les cardiomyocytes de ces souris présentent un défaut de recapture du $[Ca^{2+}]_i$ vers le réticulum sarcoplasmique. Ce défaut est plus particulièrement lié à une baisse la phosphorylation du PLN au site thréonine 17.

d) Défaut de signalisation autocrine

Nous nous sommes ensuite posé la question si l'altération du phénotype cardiomyocytaire chez les Dhh^{ECKO} était liée à un défaut de signalisation autocrine ou paracrine sur les cardiomyocytes adjacents (*résultats détaillés dans l'article*). À l'aide de deux modèles murins déplétés pour le corécepteur SMO dans les CE (Smo^{ECKO}) et dans les cardiomyocytes (Smo^{CMKO}), nous avons pu mettre en évidence que la dysfonction diastolique des Dhh^{ECKO} est liée à un défaut de signalisation autocrine

sur la CE. En effet, seules les souris Smo^{ECKO} ont développé une dysfonction diastolique similaire à celle des souris Dhh^{ECKO}.

L'ensemble des données précédentes suggère pour la première fois qu'un défaut de signalisation DHH dans la CE à lui seul est capable d'induire une dysfonction diastolique.

e) Impact de l'hypoxie sur le phénotype des cardiomyocytes

Nous avons voulu ensuite voir quelle était la part de responsabilité de l'hypoxie myocardique provoquée par la microthrombose coronaire dans la modification du phénotype des cardiomyocytes des souris Dhh^{ECKO} (*résultats détaillés dans l'article*). In vitro, à partir de culture primaire de cardiomyocytes nous avons mis en évidence que l'hypoxie est responsable de l'augmentation de Tcap et d'Acta1 dans les cardiomyocytes des souris Dhh^{ECKO}. En revanche, la diminution de phosphorylation du PLN sur la thréonine 17 et l'augmentation de l'inhibiteur de la CAMKII neurogranine sont quant à elles le reflet de l'inflammation ainsi que de l'infiltrat leucocytaire. Connaissant le lien entre hypoxie et inflammation sur le phénotype des cardiomyocytes, nous avons ensuite étudié si la microthrombose participait au développement de la dysfonction diastolique dans ce modèle murin Dhh^{ECKO}.

f) Impact de la microthrombose sur la fonction cardiaque chez les souris Dhh^{ECKO}

Afin de vérifier si le phénotype thrombotique est responsable de la dysfonction diastolique dans les souris Dhh^{ECKO}, nous avons traité ces souris de manière préventive pendant 1 mois avec deux thérapies antiagrégantes (clopidogrel [5 mg/kg/jour] ou Aspirine 25 [mg/kg/jour]) dès l'induction du KO (*figure 52*) (*Résultats de l'Aspirine dans l'article ; Clopidogrel données non publiées*). Le traitement antiagrégant préventif a permis d'améliorer la dysfonction endothéliale microvasculaire en diminuant le nombre de thrombus cardiaques et l'hypoxie myocardique. De manière inattendue, ce traitement a également diminué l'infiltration leucocytaire et réduit la fibrose périvasculaire par rapport aux contrôles. Ces effets bénéfiques sur le phénotype vasculaire ont entraîné des répercussions sur les cardiomyocytes. En effet, nous avons observé une amélioration de la tolérance à l'effort et la fonction diastolique (diminution de la pression télédiastolique et Tau). Ces résultats indiquent pour la première fois qu'une thrombose altérant la perfusion d'environ 10 % des capillaires cardiaques, contribue au dysfonctionnement diastolique dans le modèle Dhh^{ECKO}.

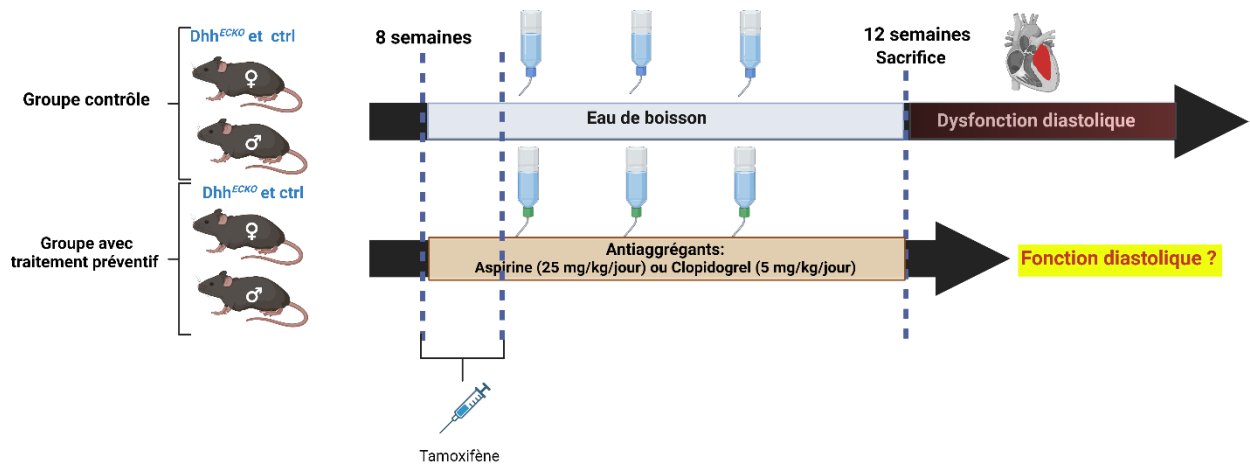


Figure 52 : Stratégie antiagrégante préventive des souris Dhh^{ECKO}

L'ensemble des résultats ci-dessus suggère pour la première fois qu'il existe un lien direct entre dysfonction endothéliale et dysfonction diastolique (figure 53). Nous nous sommes ensuite posé la question si les mécanismes identifiés chez des souris transgéniques étaient retrouvés dans un modèle physiopathologique de DT2 $Lepr^{db/db}$.

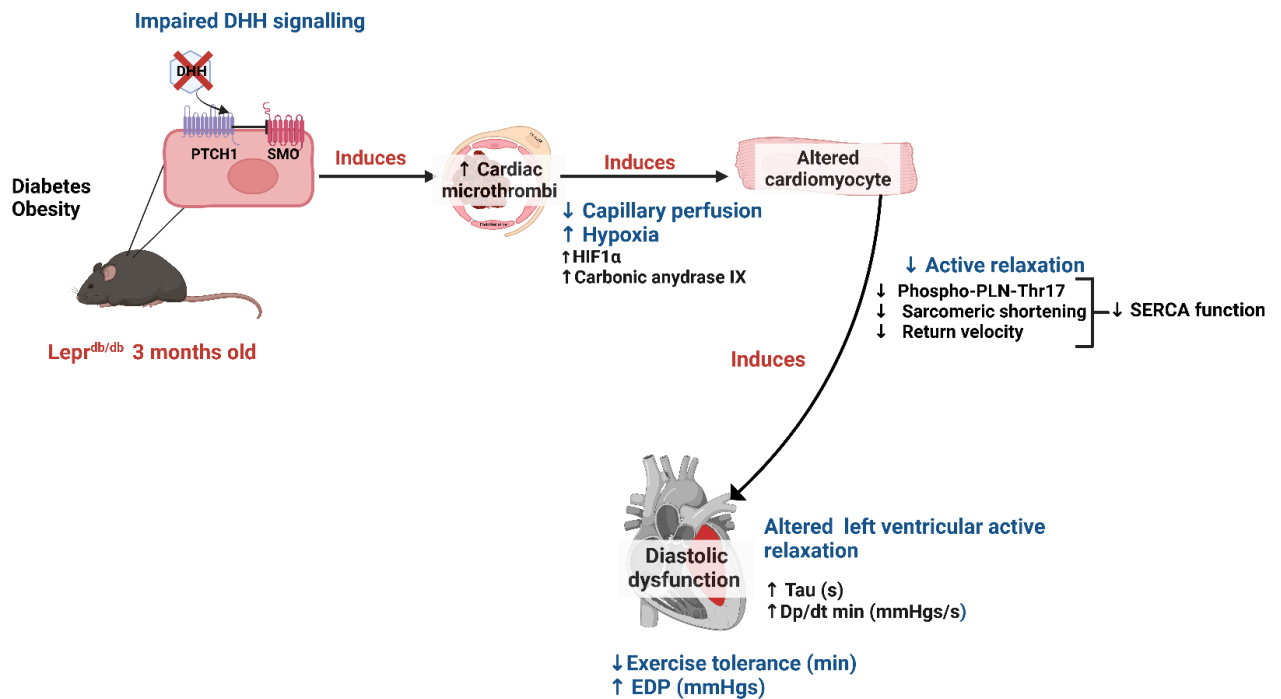


Figure 53 : Schéma récapitulatif du lien entre dysfonction endothéliale et dysfonction diastolique

4) Rôle de la thrombose dans le développement de la dysfonction diastolique des souris $Lepr^{db/db}$

a) Impact du DT2 et de l'obésité sur la thrombose cardiaque

Nous avons précédemment identifié que la thrombose participait à la physiopathologie de la dysfonction diastolique dans le modèle murin transgénique Dhh^{ECKO} , nous nous sommes ensuite posé la question si cela était également le cas dans un modèle physiopathologique de la maladie. Dans l'optique d'évaluer l'impact du DT2 et de l'obésité sur les thrombus cardiaques, nous avons quantifié leur nombre sur des coupes transversales de cœur après un marquage des plaquettes à l'aide d'un Ac-CD41 chez les souris $lepr^{db/db}$. Nous avons observé que ces souris ont un phénotype prothrombotique et une hypoxie locale myocardique semblables aux souris Dhh^{ECKO} (résultats dans l'article). L'augmentation de l'expression d' $Hhip1$ étant observée dans ce modèle murin, nous nous sommes ensuite posé la question si le KO d' $Hhip1$ prévenait la formation de thrombus cardiaques.

b) Impact de la microthrombose sur la fonction cardiaque chez les souris $Lepr^{db/db}$

Afin de vérifier si le phénotype thrombotique est responsable de la dysfonction diastolique dans le modèle physiopathologique $Lepr^{db/db}$, les souris ont été traitées de manière préventive pendant 1 mois avec deux thérapies antiagrégantes Clopidogrel ou Aspirine à partir de 8 semaines (figure 54) (résultats dans l'article).

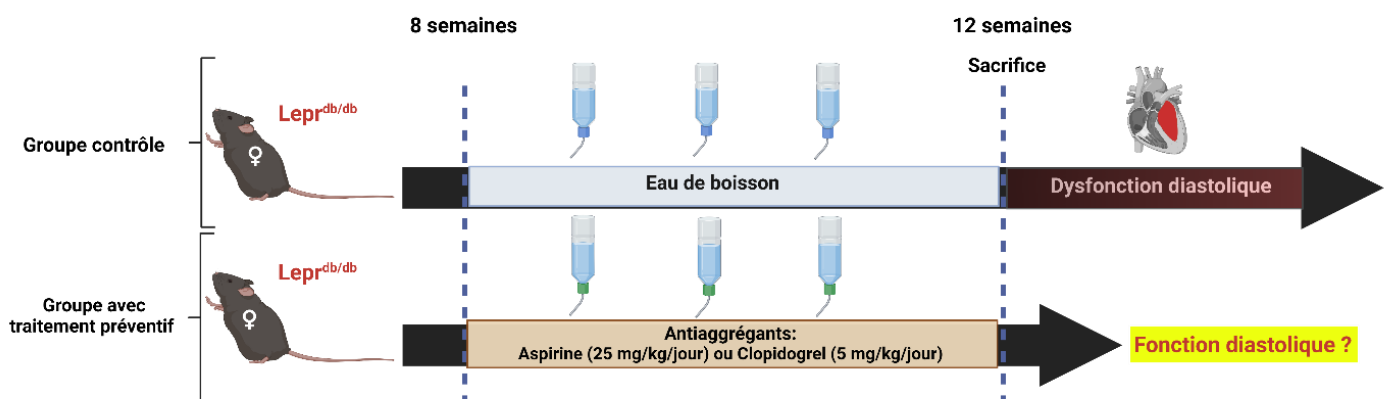


Figure 54 : Stratégie antiagrégante préventive des souris $Lepr^{db/db}$

Chez les souris $Lepr^{db/db}$ un traitement antiagrégant préventif a permis de diminuer le nombre de thrombi cardiaques et l'hypoxie myocardique. De manière inattendue, ces traitements ont également diminué l'infiltrat de leucocytes par rapport aux contrôles. Enfin, nous avons mis en évidence que l'utilisation d'un antiagrégant a prévenu l'atteinte cardiaque en améliorant la tolérance à l'effort et la fonction diastolique (diminution de la pression télédiastolique, Tau) par rapport aux souris non traitées.

Nos résultats mettent en évidence pour la première fois que dans le contexte physiopathologique du DT2, la thrombose cardiaque participe au développement de la dysfonction diastolique et aggrave la dysfonction endothéliale associée. Pour aller plus loin, nous nous sommes ensuite posé la question s'il était possible que la thrombose cardiaque soit une cible thérapeutique dans le traitement de l'ICFEP dans le phénotype « métabolique, obèse ».

1. Effet d'une thérapie curative antiagrégante sur la fonction diastolique chez les $Lepr^{db/db}$

Précédemment, nous avons mis en évidence que la thrombose participe au développement de l'ICFEP ; maintenant, nous voulons savoir s'il est possible d'améliorer la fonction cardiaque une fois que celle-ci est installée. Dans cette optique, nous avons évalué le potentiel thérapeutique d'un agent antiagrégant (Clopidogrel, 5 mg/kg/jour) chez les souris $Lepr^{db/db}$ ayant déjà une dysfonction diastolique (figure 55).

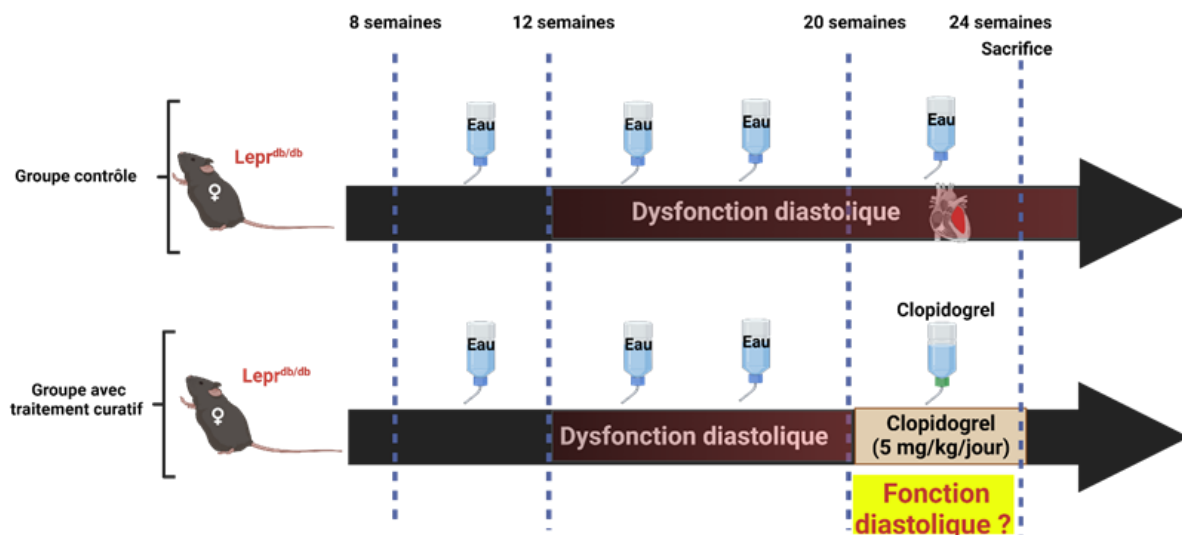


Figure 55 : Protocole de traitement antiagrégant curatif des souris $Lepr^{db/db}$

2. Impact du traitement curatif antiagrégant sur le phénotype vasculaire

Dans un premier temps, nous avons voulu vérifier l'efficacité de notre thérapie sur le nombre de microthrombi coronaires après 1 mois de traitement au clopidogrel (de 5 à 6 mois d'âge). Nous avons observé par un marquage des plaquettes avec l'Ac CD41 sur coupe transversale de cœur que la thérapie antiagrégante a permis de diminuer de manière significative la thrombose cardiaque chez les souris $Lepr^{db/db}$ par rapport aux souris non traitées (**figure 56, A-B**). Au niveau tissulaire, cette amélioration de la perfusion des capillaires coronaires s'est traduite par une diminution de l'expression du marqueur d'hypoxie HIF1A (**figure 56, C-D**). De manière cohérente avec ce qui était observé avec la thérapie antiagrégante préventive, le ciblage de la thrombose avec le traitement curatif a également eu un effet bénéfique sur l'infiltration des leucocytes CD45+ (**figure 56, E**). En revanche, conformément à ce qui était attendu l'agent antiagrégant n'a eu aucun effet sur la perméabilité vasculaire (extravasation du FGB) (**figure 56, F**).

Ces résultats mettent en évidence que la diminution des thrombus cardiaques a entraîné des répercussions bénéfiques sur le recrutement inflammatoire et l'hypoxie induite par le DT2.

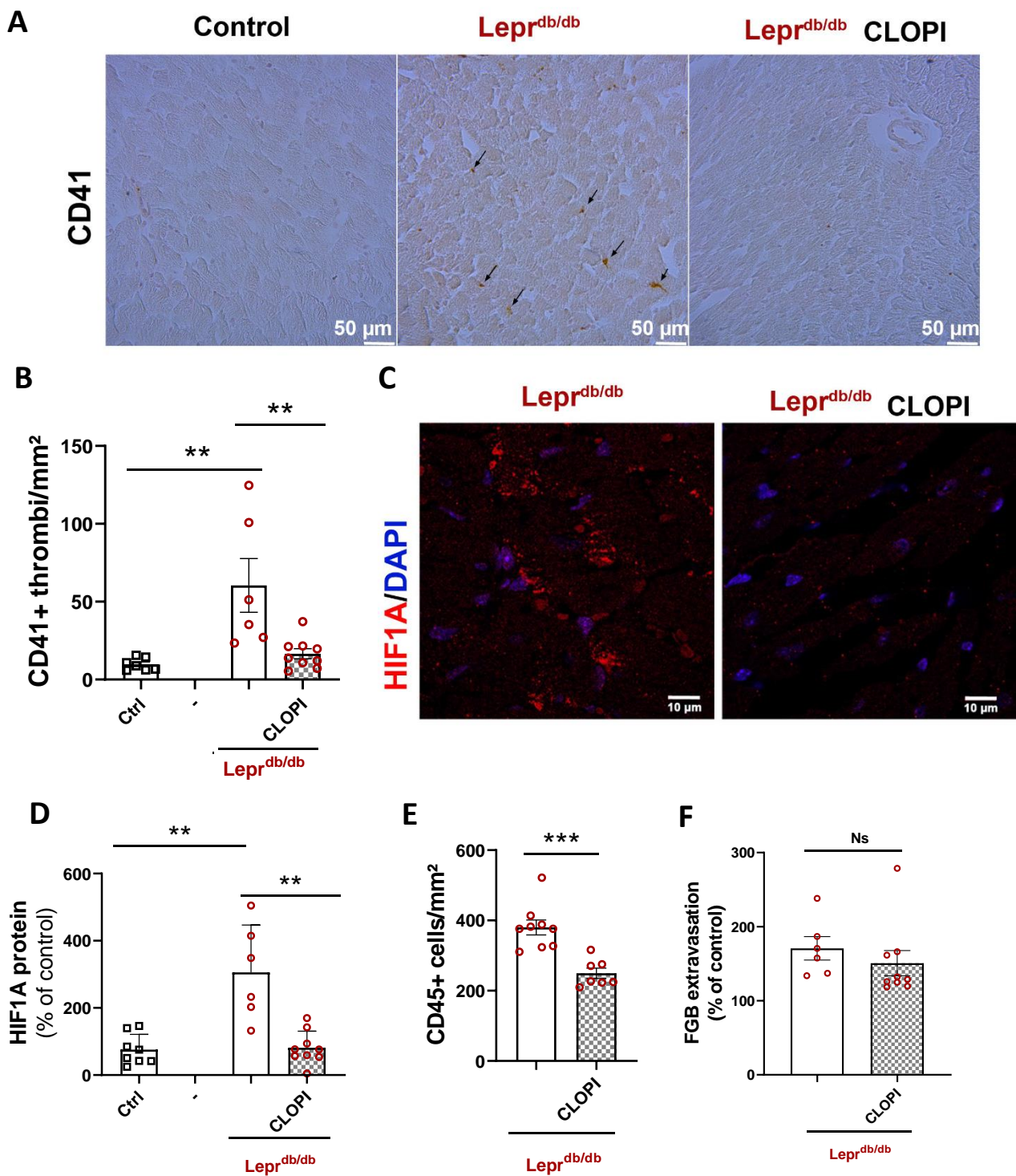


Figure 56 : Fonction endothéliale après traitement antiagrégant curatif (clopidogrel)

Le clopidogrel diminue la microthrombose et l'hypoxie myocardique associée dans le modèle **Lepr^{db/db}**. **(A)** Des coupes transversales de cœur ont été marquées avec des anticorps anti-CD41 puis révélées par un kit DAB (vector laboratories) afin d'identifier les plaquettes (flèches noires). **(B)** Le nombre de thrombus CD41+ par mm² a été quantifié à l'aide du logiciel image J (n=9 souris par groupe). **(C)** Les coupes transversales de cœur ont été marquées avec des anticorps anti-HIF1A pour identifier l'hypoxie. **(D)** Le niveau de protéine HIF1A a été quantifié à l'aide du logiciel image J (n=9 souris par groupe). **(E)** Des coupes transversales de cœur ont été marquées avec des anticorps anti-CD45 pour identifier les leucocytes. Le nombre de leucocytes CD45+ par mm² a été quantifié à l'aide du logiciel image J (n=9 souris par groupe). **(F)** Les coupes transversales de cœur ont été marquées avec des anticorps anti-FGB. L'extravasation du FGB a été quantifiée à l'aide du logiciel image J (n=6 et 9 souris par groupe). Test de Mann-Whitney. * : p<0,05 ; ** : p<0,01 ; *** : p<0,001 ; ns : non significatif.

3. Impact de la thérapie curative antiagrégante sur la fonction diastolique

Nous avons ensuite voulu voir si les effets bénéfiques de la thérapie antiagrégante sur l'inflammation et l'hypoxie ont entraîné des répercussions sur la fonction cardiaque de ces animaux. Nous avons observé une meilleure tolérance à l'effort après traitement (*figure 57, A*). Cette amélioration se traduit fonctionnellement par un meilleur remplissage et une meilleure relaxation du VG en diastole (diminution de la pression télédiastolique et de Tau) (*figure 57, B-D*). L'ensemble de ces résultats mettent en évidence le potentiel rôle thérapeutique des agents antiagrégants dans le traitement de la dysfonction diastolique dans un modèle murin de diabète.

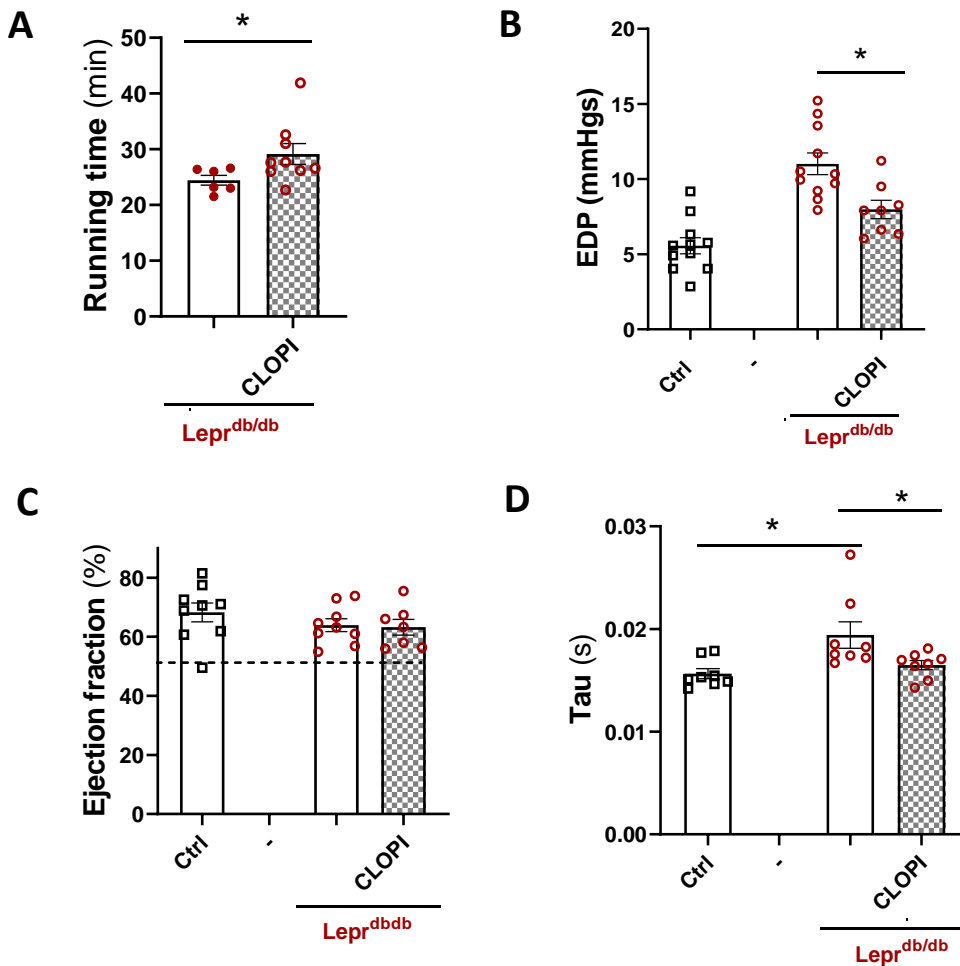


Figure 57 : Fonction cardiaque après traitement antiagrégant curatif. (clopidogrel)

Le clopidogrel améliore la fonction cardiaque des souris *Lepr^{db/db}*.

Des souris *Lepr^{db/db}* ont été traitées ou non à partir de 5 mois avec du clopidogrel pendant 1 mois et ont été sacrifiées à 6 mois. **(A)** Le temps de course a été évalué sur tapis roulant (n=4 et 9 souris par groupe). **(B)** La fraction d'éjection a été évaluée par échocardiographie (n= 10 souris par groupe) **(C)** La pression en fin de diastole du ventricule gauche a été mesurée par cathétérisme ventriculaire gauche (n=9 souris par groupe). **(D)** La constante Tau a été mesurée par cathétérisme ventriculaire gauche (n=8 souris par groupe). * : p<0,05 ; ** : p< 0,01 ; *** : p<0,001 ; ns : non significatif. Test de Mann-Whitney.

c) Place de la micro-thrombose par rapport à l'activation mastocytaire dans le modèle $Lepr^{db/db}$

Notre équipe a précédemment démontré le rôle de l'activation et de la dégranulation des mastocytes (histamine) dans le développement de la dysfonction diastolique chez les souris $Lepr^{db/db}$ (Guimbal et al. 2021). Contrairement à la thérapie antiagrégante dans cette thèse (*figure 57*), une thérapie curative (5 mois à 6 mois d'âge) inhibant l'activation des mastocytes (Cromoglycate de sodium, abcam) n'avait eu aucun effet bénéfique sur la fonction diastolique (*données non publiées ; figure 58 ; C*).

Dans ce contexte, nous avons voulu voir si l'augmentation des microthrombi coronaires pouvait survenir en amont de l'activation mastocytaire.

Dans un premier temps, à l'aide d'une coloration au bleu de toluidine, nous avons quantifié le pourcentage de mastocytes activés sur des coupes transversales de cœur de souris $lepr^{db/db}$ âgées de 3 mois ayant reçu un traitement antiagrégant préventif (Clopidogrel ou Aspirine). De manière intéressante, nous avons constaté que la thérapie préventive permet de réduire significativement le pourcentage de mastocytes activés (*figure 58 ; A-B*).

Dans un second temps, nous avons voulu vérifier que la microthrombose survenait avant l'activation des mastocytes. Pour ce faire, nous avons quantifié le nombre de thrombi (Ac CD41) sur des coupes transversales de cœur de souris $Lepr^{db/db}$ âgées de 6 mois, ayant été traités pendant 1 mois avec un agent antihistaminique (Ceterizine, Arrow Génériques) ou un inhibiteur de dégranulation (Cromoglycate de sodium, abcam). Nous avons observé que ces deux thérapies ciblant les mastocytes n'ont eu aucun effet sur le nombre de microthrombi coronaires dans ce modèle murin (*figure 58 ; D-E*).

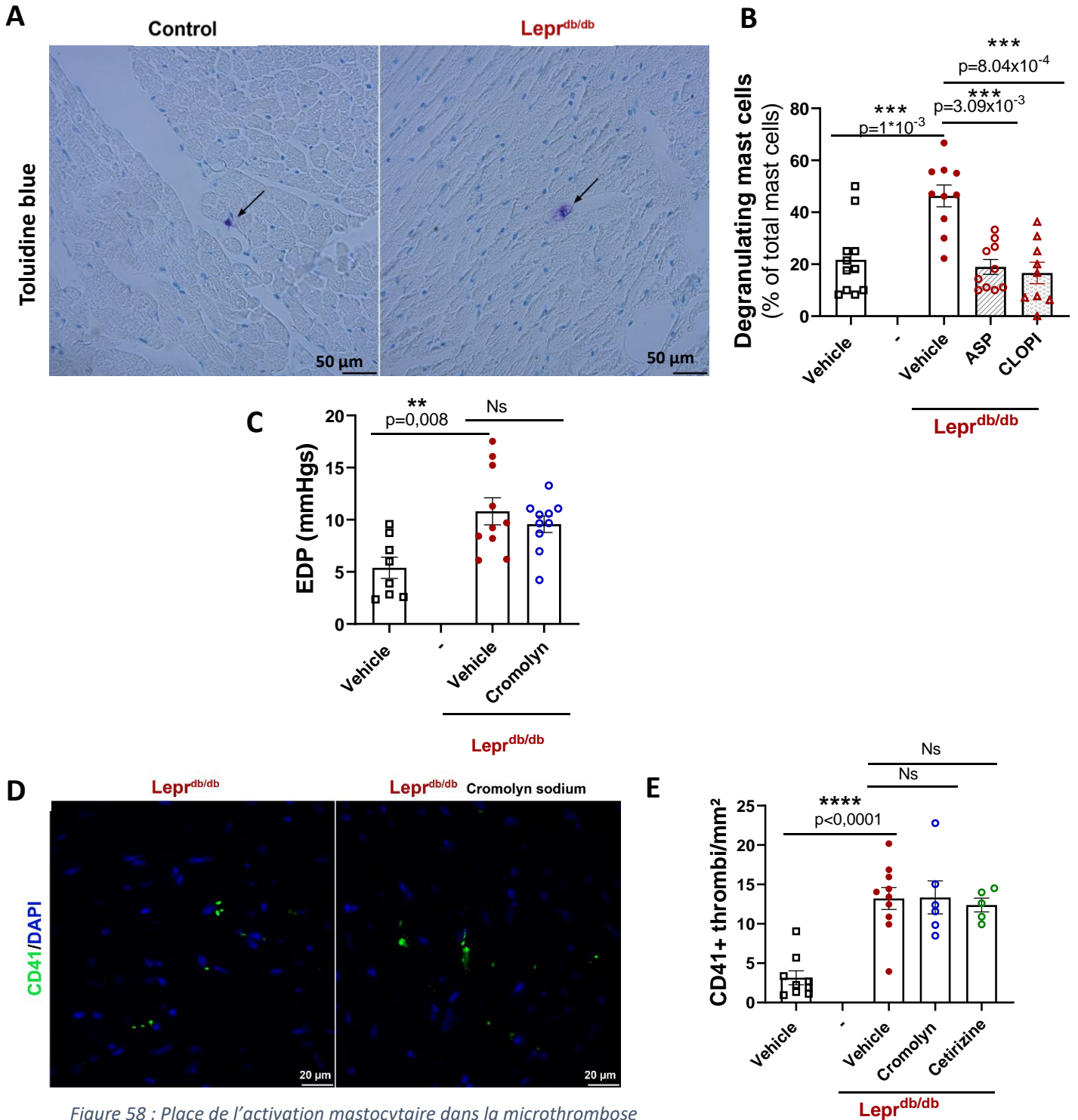


Figure 58 : Place de l'activation mastocytaire dans la microthrombose

L'augmentation des thrombi coronaires est antérieure à l'activation mastocytaire dans le modèle Lepr^{db/db}.

(A) Les coupes transversales de cœur de souris traitées de manière préventive avec les thérapies antiagrégantes ont été colorées avec du Bleu de Toluidine. (B) Le nombre de mastocytes activés a été quantifié et rapporté au nombre total de mastocytes (n= 10 souris/groupe). (C) La pression en fin de diastole du ventricule gauche a été mesurée par cathétérisme ventriculaire gauche (n=9 souris par groupe) après 1 mois de traitement curatif au cromoglycate de sodium (50 mg/kg/jour) administré à l'âge de 5 mois. (D-E) Les coupes transversales de cœurs de souris ayant été traités de manière curative à l'âge de 5 mois pendant 1 mois avec de la Ceterizine (4 mg/kg/jour) ou du cromoglycate de sodium (50 mg/kg/jour) ont été marquées avec des anticorps anti-CD41 pour identifier les plaquettes. Le nombre de thrombus CD41+ par mm² a été quantifié à l'aide du logiciel image J (n=5-7 souris par groupe). Ns : non significatif. Test de Mann-Whitney.

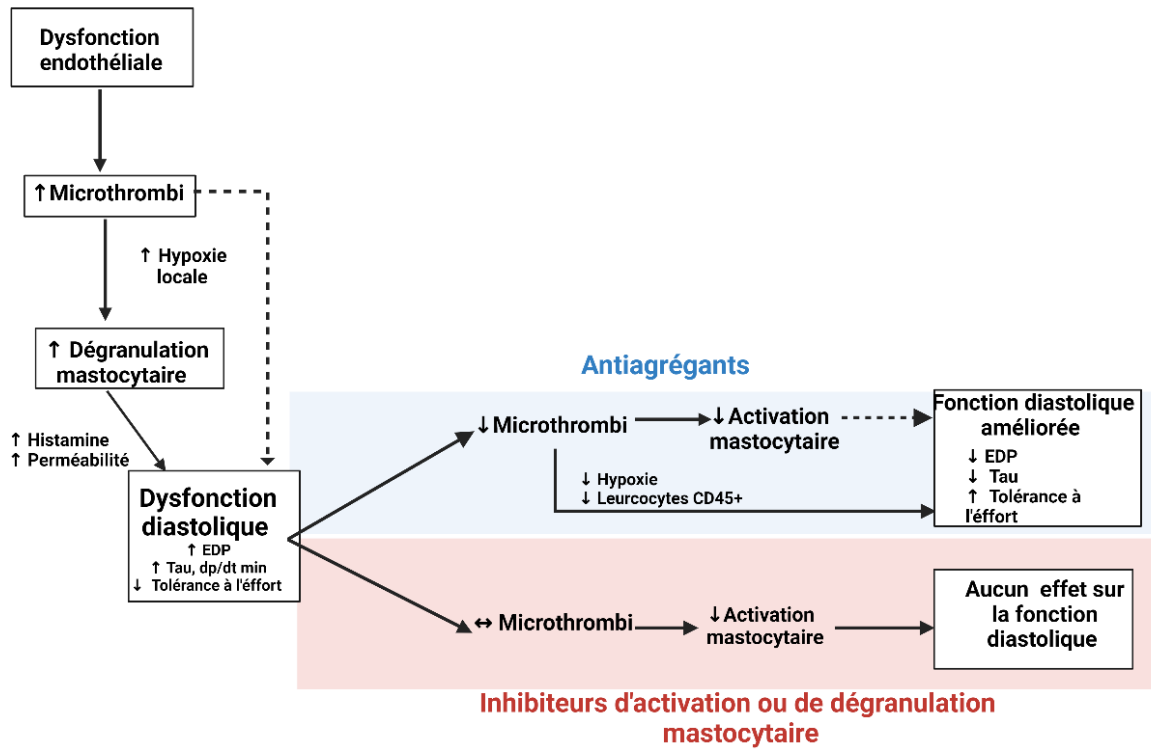


Figure 59 : Place de l'activation mastocytaire par rapport à la microthrombose dans la dysfonction diastolique

Ces résultats soulignent l'antériorité de la thrombose à l'activation des mastocytes et sont en accord avec les effets bénéfiques de la thérapie antiagrégante, et l'absence d'effet curatif des inhibiteurs la dégranulation mastocytaire (figure 59).

5) Article

Full title

Thrombosis in the coronary microvasculature impairs cardiac relaxation and induces diastolic dysfunction

Authors' names, academic degrees, and affiliations

Paul Rouault, MS¹, Sarah Guimbal, PhD¹, Lauriane Cornuault, PhD¹, Célia Bourguignon, MS¹, Ninon Foussard MD¹, Philippe Alzieu, BS¹, Frank Choveau, PhD², David Benoist, PhD², Candice Chapouly, PharmD, PhD¹ Alain-Pierre Gadeau, PhD¹, Thierry Couffinhal, MD, PhD¹, and Marie-Ange Renault, PhD¹

¹ Univ. Bordeaux, Inserm, Biology of Cardiovascular Diseases, U1034, F-33600 Pessac, France

² Univ. Bordeaux, INSERM, CRCTB, U 1045, IHU Liryc, F-33000 Bordeaux, France

Short title

Thrombosis promotes HFpEF

Name, email address, and complete address of corresponding author

Marie-Ange Renault

marie-ange.renault@inserm.fr

Inserm U1034

1, avenue de Magellan

Entrée par l'Hôpital Haut-Lévêque

33604 Pessac

France

Tel: (33) 5 57 89 19 79

Total word count: XXXX words

ABSTRACT

Introduction: Heart Failure with Preserved Ejection Fraction (HFpEF) is proposed to be caused by endothelial dysfunction in cardiac small vessels. **Objective:** Our goal was to identify molecular and cellular mechanisms underlying the development of cardiac small vessel disease and diastolic dysfunction in the setting of type 2 diabetes.

Methods and Results: We used Leptin receptor deficient ($Lepr^{db/db}$) female mice as a model of type 2 diabetes and HFpEF and identified Hedgehog interacting protein-like 1 (*Hhip1*) which encodes for a decoy receptor for Hedgehog (HH) ligands as a gene upregulated in the cardiac vascular fraction of diseased mice. We then used Desert Hedgehog (*Dhh*) deficient mice to investigate the functional consequences of impaired HH signaling in the adult heart. We found that *Dhh* deficient mice displayed increased end-diastolic pressure while left ventricular ejection fraction was comparable to that of control mice. This phenotype was associated with a reduced exercise tolerance in the treadmill test suggesting that *Dhh* deficient mice do present heart failure. At molecular and cellular level, impaired cardiac relaxation in Dhh^{ECKO} mice was associated with a significantly decreased phospholamban phosphorylation on Thr17 and an alteration of sarcomeric shortening ex-vivo. Besides, as expected, *Dhh* deficient mice exhibited phenotypic changes in their cardiac small vessels including a pro-thrombotic phenotype. Importantly, Aspirin therapy prevented the occurrence of both diastolic dysfunction and exercise intolerance in these mice. To confirm the critical role of thrombosis in the pathophysiology of diastolic dysfunction, we verified $Lepr^{db/db}$ also display increased cardiac small vessel thrombosis. Moreover, consistently, with *Dhh* deficient mice, we found that aspirin treatment decreased end-diastolic pressure and improved exercise tolerance in $Lepr^{db/db}$ mice.

Conclusion: Altogether, these results demonstrate that small vessel thrombosis may participate in the pathophysiology of HFpEF.

KEYWORDS

INTRODUCTION

A significant proportion of patients with clinical syndrome of heart failure (HF) happen to have a normal left ventricular ejection fraction (EF) referred to as heart failure with preserved ejection fraction (HFpEF) as opposed to patients with reduced ejection fraction (HFrEF). HFpEF is characterized by increased arterial and myocardial stiffness and decreased left ventricular (LV) relaxation which causes increased LV end-diastolic pressure with impaired LV filling (Y. Zhou, Zhu, and Zeng 2021). In contrast to HFrEF, for which significant advances in understanding etiologies and mechanisms have been made, HFpEF pathophysiology is still poorly understood (Lyle and Brozovich 2018). HFpEF patients are generally older, more often women, with a high prevalence of cardiovascular and non-cardiovascular comorbidities, such as obesity, metabolic syndrome, type 2 diabetes mellitus, hypertension, atrial fibrillation or renal dysfunction (Groenewegen et al. 2020). At molecular and cellular level, HFpEF has been associated with cardiac fibrosis, cardiomyocyte hypertrophy and stiffness, microvascular dysfunction, inflammation, decreased bioavailability of nitric oxide (NO) and oxidative stress (Y. Zhou, Zhu, and Zeng 2021). In 2013, based on the fact that vascular and microvascular dysfunction is highly prevalent in HFpEF patients, WJ Paulus and C Tschöpe proposed the following paradigm: cardiovascular risk factors would lead to a systemic low-grade inflammation triggering endothelial cells (EC) dysfunction which would in turn be responsible for cardiac wall stiffening and diastolic dysfunction (W. J. Paulus and Tschöpe 2013). Over the last decades, the causal role of EC dysfunction has been supported by preclinical studies in which conditional KO rodents have been used to demonstrate that alterations of EC properties are sufficient to promote diastolic dysfunction. This is the case of Sirtuin 3 (X. He et al. 2017) (Zeng, He, and Chen 2020) or Sirtuin 1 (Maizel et al. 2014a) disruption and β 3-Adrenergic Receptor (Dhot et al. 2020) or PDZ Domain Containing Ring Finger 3 (Abelanet et al. 2022a) overexpression in ECs.

However, it is still actually unknown whether EC dysfunction is responsible for diastolic dysfunction in patients or animal models with HFpEF (Cornuault et al. 2022b). Notably, WJ Paulus's group proposed that decreased NO synthase 3 (NOS3) activity in ECs would decrease the NO available to activate soluble guanylate cyclase (sGC) in cardiomyocyte leading to decreased cGMP production, protein kinase cGMP-dependent 1 (PRKG1) activity and subsequently Titin phosphorylation, ultimately leading to cardiomyocyte stiffening (W. J. Paulus and Tschöpe 2013). However, the negative results of clinical trials aiming at restoring NO/sGC/cGMP signaling in HFpEF patients suggest that this pathway may not have a central role in the pathophysiology of HFpEF (Cornuault et al. 2022b). Importantly, endothelial dysfunction does not only design endothelium-dependent vasodilation but any detrimental modification of the endothelial phenotype. Notably, it also designs impaired endothelial barrier properties, endothelial activation, impaired endothelial paracrine activity or impaired endothelial quiescence.

In the present paper, we used Leptin receptor deficient female mice (Lerp^{db/db}) as a model of HFpEF and performed a transcriptomic analysis of cardiac EaCs in order to identify new triggers of cardiac

endothelial dysfunction in the setting of type 2 diabetes and obesity. Among genes upregulated in diseased mice, we identified Hedgehog interacting protein-like 1 (Hhip1) which encodes for a decoy receptor for Hedgehog (HH) ligands. Accordingly, we performed a series of experiments to measure the functional consequences of impaired HH signaling in the heart of adult mice.

METHODS

Mice

Lepr^{db} mice (BKS.Cg-*Dock7*^m/+ *Lepr*^{db}/+J) were obtained from Charles River laboratories and bred together in our animal facility to obtain Lepr^{db/db} and control Lepr^{db}/+ mice. Only females were used.

Dhh Floxed, Dhh^{tm1c(IMPC)lcs}, (Dhh^{Flox}) mice were generated at the “Institut Clinique de la Souris” through the International Mouse Phenotyping Consortium (IMPC) from a vector generated by the European conditional mice mutagenesis program, EUCOMM and described before (Caradu, Couffinal, et al. 2018b). Smo Floxed, Smo^{tm2A^{mc}/J}, (Smo^{Flox}), and Tg(Myh6-cre/Esr1*)1Jmk/J, (Myh6-Cre/ESR1) mice were obtained from the Jackson laboratories. Hhip1^{tm1a(KOMP)Wtsi} (Hhip1-LacZ mice) (Aravani et al. 2019b) were kindly given by Tom R Webb.

Tg(Cdh5-cre/ERT2)1Rha, (Cdh5-Cre/ERT2) mice (Azzoni et al. 2014) which were a gift from RH. Adams, were maintained under a C57BL/6J background. The Cre recombinase in Cdh5-Cre/ERT2 and Myh6-Cre/ESR1 mice was activated by intraperitoneal injection of 1 mg tamoxifen (Sigma-Aldrich) for 5 consecutive days at 8 weeks of age. To induce Cre, tamoxifen is injected IP 1 mg/mL 5 consecutive days at 8 weeks of age. Successful and specific activation of the Cre recombinase have been verified before (Candice Chapouly et al. 2020a).

Except for Lepr^{db/db} mice, both male and female were used in equal proportions.

Animal experiments were performed in accordance with the guidelines from Directive 2010/63/EU of the European Parliament on the protection of animals used for scientific purposes and approved by the local Animal Care and Use Committee of Bordeaux University. Mice were either sacrificed by cervical dislocation or exsanguination under deep anesthesia (ketamine 100 mg/kg and xylazine 20 mg/kg, IP). Animals were housed in a conventional facility, on a 12h/12h (light/dark) cycle, with water and food provided ad libitum.

Induction of type 2 diabetes in mice

Mice were fed with a high fat diet (HFD) containing 60% of the energy from fat (butter) (SAFE® 260 HF) from 8 weeks of age. 4 weeks later, at 10 weeks of age, they were injected intraperitoneally with 40 mg/kg/day streptozotocin (Sigma) dissolved in sterile citrate buffer (0.05 mol/L sodium citrate, pH 4.5,

45 mg/kg) after 4 hours of fasting, for 4 consecutive days. Alternatively, mice were fed with regular chow diet (SAFE® A04).

Mice were sacrificed at 20 weeks of age e.i. 12 weeks after the HFD regimen was initiated.

Aspirin/Clopidogrel therapy

Mice were randomly assigned to be treated or not with 25 mg/kg/day aspirin (Kardegic®, Sanofi) or Clopidogrel (Arrow Génériques) for 28 days in the drinking water. Treated mice were either 8-week-old Cdh5-Cre/ERT2; Dhh^{Flox/Flox} mice or 8 week old Lepr^{db/db} mice.

Treadmill Exercise Exhaustion Test

Before treadmill experiments, mice were habituated to handling to reduce anxiety. Then, animals were familiarized with running on the treadmill (6-lane treadmill, UGO BASILE S.R.L, Italy) for 3 days: on the first day, mice were trained for 12 minutes running sessions, with gradually increasing speed to a maximum of 18 m/minutes at a 10° inclination. The second and the third days, mice were trained for 18 minutes running sessions with gradually increasing speed to a maximum of 24m/minutes at a 10° inclination. After 3 days of acclimatization to the treadmill exercise, exhaustion and fatigue tests were carried out. After 4 minutes of warm up at a speed of 5m/minutes with a slope fixed at 10° inclination, the speed was increased to 14 m/minutes for 2 minutes. The test consisted of a run at gradually increased speed to a maximum of 32 m/minutes: every 2 minutes the speed was increased by 2 m/minutes until animals were exhausted. Exhaustion was defined when mice were unable to maintain the pace and spent 10 consecutive seconds in the “fatigue zone.” Therefore, mice were considered exhausted when they remained in the lower part of the treadmill (last third) for 10 seconds. The running time was measured.

Echocardiography

Left ventricular EF and LV dimension were measured on a high-resolution echocardiographic system equipped with a 30-MHz mechanical transducer (VEVO 2100, VisualSonics Inc) as previously described (M. A. Renault et al. 2009; Roncalli et al. 2011). Mice were anesthetized using 2% oxygenated isoflurane by inhalation. Mice were anchored to a warming platform in a supine position, limbs were taped to the echocardiograph electrodes, and chests were shaved and cleaned with a chemical hair remover to minimize ultrasound attenuation. UNI’GEL ECG (Asept Inmed), from which all air bubbles had been expelled, was applied to the thorax to optimize the visibility of the cardiac chambers. EF was evaluated by planimetry as recommended (Schiller et al. 1989). Two-dimensional, parasternal long-axis, and short-axis views were acquired, and the endocardial area of each frame was calculated by tracing the endocardial limits in the long-axis view, then the minimal and maximal areas were used to determine

the left ventricular end-systolic and end-diastolic volumes, respectively. The system software uses a formula based on a cylindrical- hemi ellipsoid model ($\text{volume} = \frac{8 \times \text{area}^2}{3\pi / \text{length}}$). The left ventricular EF was derived from the following formula: $(\text{end-diastolic volume} - \text{end-systolic volume}) / \text{end-diastolic volume} \times 100$. The cardiac wall thickness, LV posterior wall, interventricular septum, and LV internal diameter were calculated by tracing wall limits in both the long and short axis views.

LV Pressure/Systolic Blood Pressure Measurement

LV diastolic pressure measurement was assessed via invasive catheterization technique. Briefly, mice were anesthetized with 2% isoflurane. A Scisense pressure catheter (Transonic) was inserted into the LV through the common carotid artery. Pressure was recorded using LabChart software. End-diastolic pressure, dP/dt minimum and maximum, Tau, and heart rate were automatically calculated by a curve fit through end-systolic and end-diastolic points on the pressure plot.

Wire myography

Femoral arteries, dissected and segmented (1.8-2.0 mm length) were mounted using two tungsten threads in a Mulvany myograph (Danish Myo Technology, Aarhus, Denmark) as previously described (Dumas de la Roque et al. 2017). Arteries were bathed in Krebs buffer (119 mM NaCl, 4.7 mM KCl, 1.5 mM CaCl₂, 1.17 mM MgSO₄, 1.18 mM KH₂PO₄, 25 mM NaHCO₃ and 5.5 mM glucose) and maintained at 37°C. The arteries were studied under a resting tension corresponding to equivalent transmural pressures of 100 mmHg (13.3kPa), which was previously shown to be the optimal resting tension in a passive length-tension relationship. The arteries functionality was checked by adding 80 mM KCl and no difference was observed between the three groups. The relaxant responses to acetylcholine and sodium nitroprusside were determined after pre-contraction with phenylephrine (3.10–7M, which corresponds to approximately 90% of the maximal contraction) by adding increased concentrations (ranging from 10⁻⁹ to 10⁻⁴M) of the vasodilatation agent and by building the concentration/relaxation curve.

Leucocyte Rolling (Live imaging)

To minimize pain caused by the surgery, mice were subcutaneously administered 0.1 mg/kg buprenorphine 30 min before surgery. Mice were anesthetized by intraperitoneal injection of ketamine (100 mg/kg) and xylazine (10 mg/kg). To label leukocytes, mice were administered intravenously with 3.6 mg/kg Rhodamine 6G (Sigma). Mesenteric venules were then exposed under a stereomicroscope (AXIO Zoom.V16, Zeiss). Leukocyte rolling was imaged at a 200X magnification and 142 frames/second. Three 10-second movies were recorded per mouse. The number of white blood cells crossing a line perpendicular to the vein for 10 seconds was counted. Importantly the cells that are circulating normally are not visible because they are too fast.

Immunostaining

Prior to harvest, heart was perfused with 8 g/L containing NaCl 0.9% to stop the heart in diastole, it was then fixed with methanol, paraffin-embedded and cut into 7 µm thick sections.

Capillary density was evaluated in sections stained with anti-CD31 or anti-Podocalyxin (PODXL) antibodies by quantifying the number of CD31+ or PODXL+ elements. Leucocyte infiltration was quantified using anti-CD45 antibodies, respectively. Edema was measured after FGB or IgG staining of heart sections and quantified as the mean FGB or IgG-positive areas. Endothelial activation was identified using anti-ICAM-1. Thrombi were identified using anti-CD41 antibodies and quantified as the number of CD41+ elements. **(See Supplemental table 1 for antibody references.)**

Cardiomyocyte mean surface area was measured using ImageJ software after membrane staining with Wheat Germ Agglutinin (WGA), Alexa Fluor™ 488 Conjugate (Invitrogen). Fibrosis was assessed either after sirius red staining of heart sections by quantifying the percentage of red stained area.

Quantifications were done on images were acquired using an Axiozoom V16 or Axioscope A1 (Zeiss) under 200x magnification. They were conducted on 10 randomly selected images were performed using ImageJ/Fiji v2.0.0-rc-59 software (National Institute of Health, USA) by an investigator blinded to genotype. More precisely, each sample received a unique number. At the end of the experiment, the genotype/treatment for each sample was unveiled to enable data analysis.

For immunohistochemical analyses, primary antibodies were sequentially coupled with biotin-conjugated secondary antibodies and streptavidin-horseradish peroxidase (HRP) complex (Amersham). Staining was then revealed with a DAB substrate kit (Vector Laboratories) and tissue sections were counterstained with hematoxylin **(see Supplemental table 2 for secondary antibody references)**.

For immunofluorescence analyzes, primary antibodies were resolved with Alexa-Fluor–conjugated secondary polyclonal antibodies **(see Supplemental table 2)**. Nuclei were counterstained with DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole).

For both immunohistochemical and immunofluorescence analyses, negative control experiments to check for antibody specificity were performed using secondary antibodies.

Representative confocal images were taken with a ZEISS LSM 700 scanning confocal microscope (Carl Zeiss, Germany).

En face aorta staining

Thoracic aortas were fixed with 10% formalin for 10 minutes immediately after they were harvested, washed with PBS, cleaned and opened longitudinally. Von Willebrand factor (VWF) exocytosis was quantified after VWF staining of not permeabilized aortas. For quantification 3 pictures per aortas were

taken with a ZEISS LSM 700 scanning confocal microscope (Carl Zeiss, Germany). WVF excitosi was quantified as the mean WVF surface area.

In situ hybridization

Prior to harvest, heart was perfused with 8 g/L containing NaCl 0.9% to stop the heart in diastole, it was then fixed with 10% formaline, paraffin-embedded and cut into 5 µm thick sections.

Dhh mRNA was labeled using the RNAscope® Probe- Mm-Dhh-C2 (Advanced Cell Diagnostics) and the RNAscope multiplex fluorescent reagent kit V2 ((Advanced Cell Diagnostics)) following the manufacturer's instructions. Tissues were counterstained with WGA- Alexa Fluor™ 488 Conjugate (Invitrogen) and DAPI.

Quantitative RT-PCR

RNA was isolated using Tri Reagent (Molecular Research Center Inc) as instructed by the manufacturer, from heart tissue that had been snap-frozen in liquid nitrogen and homogenized. For quantitative real time-polymerase chain reaction (PCR) analyses, total RNA was reverse transcribed with M-MLV reverse transcriptase (Promega), and amplification was performed on an AriaMx Real Time PCR system (Agilent Technologies) using B-R SYBER Green SuperMix (Quanta Biosciences). Primer sequences are reported in **Supplemental table 3**.

The relative expression of each mRNA was calculated by the comparative threshold cycle method and normalized to b-actin rRNA expression.

RNA sequencing

RNA was isolated using Tri Reagent® (Molecular Research Center Inc) as instructed by the manufacturer from the cardiac vascular fraction of $Lepr^{db/db}$ mice and control $Lepr^{db/+}$ mice. mRNA library preparation were realized following manufacturer's recommendations (KAPA mRNA HyperPrep Kit from ROCHE). Final samples pooled library prep were sequenced on Nextseq 500 ILLUMINA, corresponding to 2x30Millions of reads per sample after demultiplexing.

Quality of raw data has been evaluated with FastQC (S. Andrews 2010). Poor quality sequences has been trimmed or removed with Trimmomatic (Bolger, Lohse, and Usadel 2014) software to retain only good quality paired reads. Star v2.5.3a (Dobin et al. 2013) has been used to align reads on mm10 reference genome using standard options. Quantification of gene and isoform abundances has been done with rsem 1.2.28, prior to normalisation with edgeR bioconductor package (M. D. Robinson, McCarthy, and Smyth 2010). Finally, differential analysis has been conducted with the glm framework likelihood ratio test from edgeR. Multiple hypothesis adjusted p-values were calculated with the

Benjamini-Hochberg procedure to control FDR. The FPKM values of all transcripts of which expression was significantly different between both groups in Supplemental table 2.

Western Blot Analysis

ATP2A2 protein level was evaluated by SDS PAGE using rabbit anti-ATP2A2 antibodies (Badrilla, Cat# A010-80). PLN phosphorylation at Serine 16 and Threonin 17 was evaluated by SDS PAGE using rabbit anti-phospho-PLN Ser16 (Badrilla, Cat# A010-12), rabbit anti-phospho-PLN Thr17 (Badrilla, Cat# A010-13) and mouse anti-total PLN (Badrilla, Cat# A010-14).

Protein loading quantity was controlled using mouse monoclonal anti- α -tubulin antibodies (Sigma, Cat# T5168).

Titin Gel

Tissues were grinded in 8 mol/L Urea buffer (Urea 8 mol/L, Thiourea 2 mol/L, SDS 3%, DTT 75 mmol/L, Tris-HCl 0.05 mol/L, Bromophenol blue 0.03%) and additioned with glycerol and protease/phosphatase inhibitors. Protein were then separated on a 1% agarose and 30% glycerol containing gel under a 15 mA intensity for 4 hours à 4°C. The gel was subsequently stained with Pro-Q® Diamond phosphoprotein gel stain to identify phospho-proteins and Coumassie blue to identify total proteins.

Cell culture/Plasmids/Transfection

pcDNA3-FL-Dhh (Caradu, Couffinhal, et al. 2018c) was described previously. The myc-tagged human Ptch1, Ptch1-1B-myc was kindly given by R. Toftgard (Kogerman et al. 2002). pLEICS-29- Hhip1-GFP (Aravani et al. 2019b) was kindly given by Tom R Webb. pRK Smo WT (Low et al. 2008) was a gift from Baoling Wang.

HeLa ATCC®CCL-2™ cells were cultured in Roswell Park Memorial Institute medium (RPMI) supplemented with 10% fetal bovine serum.

HeLa cells were transfected using JetPRIME™ transfection reagent (Polyplus Transfection), according to the manufacturer's instructions.

Immunoprecipitation/western blot analysis

Prior to western blot analysis, Ptch1 was immunoprecipitated with anti myc-tag antibodies (Millipore, Cat# 05-724). Expression of Dhh, Shh, Ptch1 and Smo were evaluated by SDS PAGE using mouse anti-Dhh antibodies (Santa Cruz Biotechnology, Inc, Cat# sc-271168), mouse anti-Shh antibodies (Santa Cruz

Biotechnology, Inc, Cat#sc-365112), rabbit-anti Hh antibodies (Santa Cruz Biotechnology, Inc, Cat# sc-9024), rabbit anti-Ptch1 antibodies (Abcam, Cat#ab53715).

Isolation of adult mouse cardiac vascular fraction

Heart were dissociated using 2 mg/mL type IV collagenase (Gibco™, ThermoFisher) for 1 hour at 37°C and the resulting dissociated cells were filtrated on a 30 µm strainer. ECs cells were labelled with rat anti-mouse CD31 microbeads (Miltenyi Biotec) and enriched via magnetic cells sorting.

Isolation and culture of mouse cardiac ECs from pups

Hearts from 7-14 day old pups were dissociated using 2 mg/mL type IV collagenase (Gibco™, ThermoFisher) for 1 hour at 37°C and the resulting dissociated cells were filtrated on a 30 µm strainer. ECs cells were labelled with rat anti-mouse CD31 microbeads (Miltenyi Biotec) and enriched via magnetic cells sorting. ECs were then seeded in 3.8 cm² wells coated with Matrigel® (Corning) 1/50 and cultured in endothelial basal medium-2 (EBM-2) supplemented with EGM™-2-MV BulletKits™ (Lonza). After 24 hours, culture medium was replaced with fresh medium containing 0.4 µg/µL puromycine (Sigma) and 0,2 µmol/L 4OH-tamoxifen (Sigma) and cells were grown on an orbital shaker at 125 rpm for at least 72 hours.

Isolation and culture of mouse adult ventricular cardiomyocytes

Hearts were dissociated using 300 U/mL Collagenase type 2 (Worthington) via aortic catheterization and perfusion for 5 minutes at 37°C in 130 mmol/L NaCl, 5.4 mmol/L KCl, 1.4 mmol/L MgCl₂, 0.4 mmol/L NaH₂PO₄, 5 mmol/L HEPES, 10 mmol/L Glucose, 10 mmol/L Creatine, 20 mmol/L Taurine and 0.75 mol/L CaCl₂. The resulting dissociated cells were then filtrated on a 400 µm mesh and centrifuged at 500 rpm for 5 minutes to separate cardiomyocytes. Centrifuged cardiomyocytes then incubated in increasing CaCl₂ concentrations (from 12,5 µmol/L to 900 µmol/L in the presence of 2 mmol/L Adenosine Triphosphate (ATP) (Sigma). Cells were then centrifuged again at 500 rpm for 5 minutes, re-suspended in Minimum Essential Medium (MEM) (Gibco) containing 5% FBS, 1.26 mM CaCl₂, 10 mmol/L 2,3-Butanedione monoxime (Sigma) and 2 mmol/L ATP and seeded in cell culture wells coated with 10 µg/mL Laminine (Sigma). After a 2-hour incubation at 37°C, culture medium was replaced by MEM containing 0,2% bovine serum albumin (Sigma), 1.26 mM CaCl₂, 1X Insulin/Transferin/Selenium (Gibco) and 25 µM blebbistatin (Sigma).

Cardiomyocyte contractility Assay

Freshly isolated cardiomyocytes (less than 12 hours) were placed in a perfusion chamber mounted on the stage of an inverted microscope (Eclipse Ti-U, Nikon; France) and continuously perfused with a Tyrode solution (140 mmol/L NaCl, 5 mmol/L KCl, 1 mmol/L CaCl₂, 1 mmol/L MgCl₂, 10 mmol/L glucose and 10 mmol/L HEPES, pH 7.4) at room temperature. Cardiomyocytes were field-stimulated to contract at 2 Hz through platinum electrodes connected to a constant-voltage stimulator (DS2A, Digitimer Ltd) and sarcomere length continuously monitored through a video-detection system (MyoCam, IonOptix). Ten consecutive beats at steady-state were averaged and analyzed using IonWizard software (IonOptix).

Statistics

Results are reported as mean±SEM. Comparisons between groups were analysed for significance with the nonparametric Mann-Whitney test or the Kruskal-Wallis test followed by Dunn multiple comparison test (for >2 groups) using GraphPad Prism v8.0.2 (GraphPad Inc, San Diego, Calif). The normality and variance were not tested. Differences between groups were considered significant when $P \leq 0.05$ (* $P \leq 0.05$; ** $P \leq 0.01$; *** $P \leq 0.001$).

RESULTS

Dhh-induced signaling is impaired in the heart of *Lepr^{db/db}* mice

We used *Lepr^{db/db}* female mice as a model of HFpEF (Guimbal et al. 2021b) to identify new triggers of cardiac small vessel disease associated with this disease. Practically, we performed a transcriptomic analysis, via RNA sequencing of the cardiac vascular fraction of *Lepr^{db/db}* mice and compared it to the one of their control littermate *Lepr^{db/+}*. Notably, this analysis, that we published previously (Guimbal et al. 2021b), revealed that *Hhip1* which encodes for a decoy receptor for HH ligands is significantly upregulated in the heart of *Lepr^{db/db}* mice. Interestingly, this gene has been previously associated with cardiovascular diseases and atherosclerosis in humans in genome wide association studies (Schunkert et al. 2011; Aravani et al. 2019b). Moreover, we previously demonstrated HH signaling is critical for endothelium integrity (Caradu, Couffinhal, et al. 2018c). First we confirmed that *Hhip1* mRNA was upregulated in the heart of *Lepr^{db/db}* mice via RT-qPCR (**Figure 1A**) and hypothesized that *Hhip1* overexpression may inhibit HH signaling in the heart of *Lepr^{db/db}* by acting as a decoy receptor for HH ligands. First, we search for cells expressing *Hhip1* in the heart. To do so we used *Hhip1-LacZ* mice in which we induced diabetes by submitting them to a high-fat diet regimen and low-dose streptozotocin

administrations. As shown in **Figure 1B**, *Hhip1* is mainly expressed by perivascular cells that are more likely fibroblasts. We then quantified the expression of each HH ligand in the heart of *Lepr^{db/db}* mice and their control littermate via RTqPCR. We found the main HH ligand expressed in the heart of adult mice was Desert Hedgehog (DHH); Indian Hedgehog mRNA was only detected at low level while Sonic Hedgehog mRNA was not expressed (**Figure 1C-E**). Neither *Dhh* nor *Ihh* mRNA expression level was different in *Lepr^{db/db}* in comparison to control mice. Next, we tested whether HHIPL1 can bind DHH. To do so we performed co-immunoprecipitation assays using HeLa cells transfected with both DHH and HHIPL1 encoding plasmids. We found HHIPL1 was co-immunoprecipitated with DHH suggesting HHIPL1 can bind DHH (**Figure 1F**). Finally, we tested whether HHIPL1 can prevent DHH binding to Patched-1 (PTCH1) and/or Smoothened (SMO). We performed again co-immunoprecipitation assay and found that the amount of DHH immunoprecipitated together with PTCH1 was significantly diminished in the presence of HHIPL1, suggesting that HHIPL1 prevented DHH binding with PTCH1 (**Figure 1G-H**). The same results were obtained with SMO (**Figure 1I-J**).

Altogether these results suggested that the increased HHIPL1 expression observed in cardiac perivascular cells in diabetic mice may impair DHH-induced signaling in the heart.

Impaired *Dhh*-induced signaling induces diastolic dysfunction

In order to evaluate the functional consequences of impaired DHH-induced signaling in the heart of adult mice, we used conditional KO mice for DHH. More specifically, we disrupted DHH expression specifically in ECs in 8-week-old mice using *Cdh5-Cre/ERT2* mice. Indeed, we previously demonstrated that DHH is mainly expressed by ECs in the adult mouse heart (**Supplemental Figure 1A**) (Caradu, Couffinhal, et al. 2018c). One month later, *Dhh* mRNA expression was diminished by more than 80% in cardiac ECs of *Dhh^{ECKO}* while neither *Ihh* nor *Shh* mRNA expression was modulated (**Supplemental Figure 1B-D**). As a result, *Dhh* mRNA expression in the whole heart was decreased by more than 50% (**Supplemental Figure 1E**).

To test whether impaired DHH signaling in the heart may contribute to heart failure, we measured cardiac function in *Dhh^{ECKO}* mice and their control littermates, 1 month after *Dhh* KO was induced, via echocardiography and left ventricular catheterization. *Dhh* deficiency did not affect systolic function, since neither LV ejection fraction nor dP/dt maximum were different in *Dhh^{ECKO}* mice as compared to control mice (**Figure 2A-B**). On the contrary, *Dhh* deficiency induced diastolic dysfunction attested by significantly increased end-diastolic pressure, dP/dt minimum and Tau (**Figure 2C-E**). Moreover, *Dhh*-deficient mice display impaired exercise tolerance suggesting heart failure (**Figure 2F**). This was not associated with cardiac hypertrophy (**Figure 2G-H**).

Altogether, this set of data demonstrates, for the first time, that impaired DHH signaling in the heart may contribute to diastolic dysfunction and heart failure.

Dhh-induced signaling is necessary to prevent capillary leakage and cardiac inflammation

To investigate mechanisms underlying the development of diastolic dysfunction in *Dhh*^{ECKO} mice, we first assessed the phenotype of the cardiac vasculature of *Dhh* deficient mice. Indeed, we previously demonstrated DHH is critical for endothelium integrity (Caradu, Couffinhal, et al. 2018c). *DHH* KO in ECs did not modify capillary density (**Supplemental Figure 2A-B**), nor endothelium-dependent vaso-relaxation attested by unchanged acetylcholine-induced vaso-relaxation (**Supplemental Figure 2C-D**), and equal levels of Nitric Oxide Synthase 3 (NOS3) in *Dhh*^{ECKO} and control mice (**Supplemental Figure 2E-F**). However, consistent with our previous investigations, *Dhh* ECKO induced abnormal vascular leakage, both fibrinogen and IgG extravasation were significantly increased in the heart of *Dhh*^{ECKO} mice compared to control mice (**Supplemental Figure 2G-I**).

Dhh ECKO increased leucocyte adhesion and rolling on the endothelium, notably in mesenteric veins (**Supplemental Figure 2J**), however, it did not increase expression of adhesion molecules, since Intercellular adhesion molecule 1 (ICAM1) protein level was not modified in *Dhh*^{ECKO} mice compared to control mice while Vascular cell adhesion molecule 1 (VCAM1) level was slightly decreased (**Supplemental Figure 2K-N**). In line with the increased endothelium adhesiveness, the heart of *Dhh*^{ECKO} mice was infiltrated by more CD45+ leucocytes (**Supplemental Figure 3A-B**). This was associated with an increased C-C Motif Chemokine ligand 5 (*Ccl5*) mRNA expression in total heart extracts (**Supplemental Figure 3**).

Also, *Dhh* ECKO enhanced perivascular fibrosis (**Supplemental Figure 3D-E**) but not the overall interstitial fibrosis as attested by equal Sirius red+ surface area (**Supplemental Figure 3F**) and similar mRNA expression level of Collagen Type I Alpha 1 Chain and Collagen Type III Alpha 1 Chain in *Dhh*^{ECKO} and control mice (**Supplemental Figure 3G-H**). The increased perivascular fibrosis was associated with increased *Tgfb1* mRNA levels (**Supplemental Figure 3I**).

This set of data confirms DHH is necessary to maintain cardiac capillary integrity.

Dhh deficiency induced impaired cardiomyocyte contractility

We then tested whether the phenotype of cardiomyocytes was altered in *Dhh* deficient mice. The size of cardiomyocytes was equivalent in *Dhh*^{ECKO} and in control mice (**Figure 3A-B**) which is consistent with heart weight and echocardiographic assessments. Expression of Myosin Heavy Chain 6 (*Myh6*) in the heart was not significantly altered while the one of Myosin Heavy Chain 7 (*Myh7*) was significantly decreased (**Figure 3C-D**). Connexin-43 (*Cx43*) displayed a similar pattern and expression levels in both groups (**Figure 3E-F**). ATPase Sarcoplasmic/Endoplasmic Reticulum Ca²⁺ Transporting (*ATP2A2*) protein expression level was not different in *Dhh*^{ECKO} and in control mice (**Figure 4A-B**). Phosphorylation of

Phospholamban (PLN) on Serine 16 was not modified either while phosphorylation of PLN on threonine 17 was significantly diminished (**Figure 4C-E**) in *Dhh*^{ECKO} mice suggesting impaired cardiomyocyte relaxation. Notably, this is consistent with the increased dP/dt min and Tau measured via left ventricular catheterization. To confirm cardiomyocyte relaxation was impaired in *Dhh*^{ECKO} mice, we then performed ex vivo cardiomyocyte contractility tests. In these tests, cardiomyocytes from *Dhh*^{ECKO} mice showed a decrease in the amplitude of sarcomere shortening (**Figure 4F**) and a slower relaxation (**Figure 4G**) compared to cardiomyocyte from control mice; this is consistent with a slower Ca²⁺ reuptake by the sarcoplasmic reticulum.

Finally we tested whether the properties of Titin (TTN) the giant protein controlling cardiomyocyte stiffness were modified. Notably the ratio of isoform N2BA/N2B of Ttn was significantly increased in *Dhh*^{ECKO} mice (**Figure 4H-J**) while the overall phosphorylation of TTN measured using Pro-Q diamond stain was not modified (**Figure 4K-L**).

Altogether these results show that impaired cardiac relaxation attested by the increased dP/dt min and Tau values, is associated with a decreased phosphorylation of PLN on Thr17 and a decreased cardiomyocyte relaxation velocity suggesting an impaired calcium reuptake by the sarcomeric reticulum. The increased ratio N2BA/N2B of Ttn isoforms, which is what is typically seen in human heart failure (Makarenko et al. 2004), is more likely reflecting an adaptation of the heart to the increased EDP. The increased Myh7 expression is unexpected since the opposite is usually seen in heart failure (Vigil-Garcia et al. 2021)

Impaired cardiac relaxation in *Dhh*^{ECKO} mice is due to impaired HH signaling to ECs but not cardiomyocytes.

In order to test whether impaired cardiomyocyte and cardiac wall relaxation observed in *Dhh*^{ECKO} mice was due to impaired DHH signaling to cardiomyocyte directly or to impaired DHH signaling to ECs, we used Smoothed (Smo) conditional KO mice. Smo expression was either disrupted in cardiomyocyte by tamoxifen administrations in Myh6-Cre/ESR1, *Smo*^{Flox/Flox} (*Smo*^{CMKO}) mice or in ECs by tamoxifen administrations in Cdh5-Cre/ERT2, *Smo*^{Flox/Flox} (*Smo*^{ECKO}) mice. Cardiac function was assessed 1 month later via echocardiography and LV catheterization. Unexpectedly, the LVEF, the EDP and the heart weight over tibia length ratio were equivalent in *Smo*^{CMKO} mice and control littermates (**Supplemental Figure 4A-C**) suggesting that the impaired cardiomyocyte relaxation observed in *Dhh*^{ECKO} mice is not due to impaired DHH signaling to cardiomyocytes directly. On the contrary, *Smo*^{ECKO} mice fully recapitulated the phenotype of *Dhh*^{ECKO} mice, i.e. they showed unchanged LVEF and heart weight over tibia length ratio but significantly increased EDP compared to their control littermates (**Supplemental Figure 4D-F**) suggesting that cardiomyocyte relaxation impairment observed in *Dhh*^{ECKO} mice is indirectly due to impaired DHH-induced autocrine signaling in ECs.

Dhh^{ECKO} mice display a pro-thrombotic phenotype

In order to identify the potential mechanisms responsible for the impaired cardiomyocyte relaxation observed in *Dhh^{ECKO}* mice; we performed a comparative RNA sequencing analysis of total heart extracts from *Dhh^{ECKO}* mice and control mice. This analysis identified 87 genes upregulated in *Dhh^{ECKO}* mice vs control and 27 genes that were downregulated (**Supplemental Table 4, Supplemental Figure 5A**). Notably, among these genes upregulated, two (Actin Alpha 1, Skeletal Muscle (*Acta1*) and Titin-Cap (*Tcap*)) were involved in skeletal myofibril assembly confirming that the phenotype of cardiomyocyte is modified in these mice. But most interestingly, a biological process enrichment analysis identified 12 genes involved in blood coagulation (**Supplemental Figure 5B**). Those genes, which include Glycoprotein Ib Platelet Subunit Alpha (*Gp1ba*), Glycoprotein IX Platelet (*Gp9*) and Glycoprotein V Platelet (*Gp5*), are actually genes specifically expressed by platelets (**Supplemental Figure 5C**). These data suggest that there is an abnormal accumulation of platelets in the heart of *Dhh^{ECKO}* mice, so we tested whether the endothelium of *Dhh^{ECKO}* mice is pro-thrombotic. Accordingly, we found that both the amount of Von Willebrand Factor (VWF) exposed at the surface of the aortic endothelium (**Figure 6A-B**) and the level of circulating D-dimers were significantly increased in *Dhh^{ECKO}* mice (**Figure 6C**). Consistent with the RNA sequencing data, the number of thrombi, identified after CD41 staining of heart sections was significantly increased in the coronary microvasculature of *Dhh^{ECKO}* mice in comparison to control mice (**Figure 6D-E**). To test whether these thrombi would affect the perfusion of the coronary microcirculation, mice were administered intravenously with FITC-labelled BS1-Lectin. As shown in **Figure 5F-G**, the percentage of cardiac capillaries perfused with BS-1 lectin over 2 minutes was significantly diminished in *Dhh^{ECKO}* mice. Moreover, this impaired capillary perfusion was associated with increased levels of Solute Carrier Family 2 Member 1 (*Slc2a1*), Hypoxia Inducible Factor 1 Subunit Alpha (HIF1A), and Carbonic Anhydrase 9 (CA9), three markers of cardiac hypoxia (**Figure 5H-K**).

Altogether, these results demonstrate for the first time that *Dhh^{ECKO}* mice do have a pro-thrombotic phenotype which induces local tissue hypoxia especially in the heart. Notably the same phenotype was observed in *Smo^{ECKO}* mice. Indeed, like *Dhh^{ECKO}* mice, *Smo^{ECKO}* mice showed increased VWF released at the surface of the aortic endothelium (**Supplemental Figure 6A-B**) and increased thrombi density in the heart (**Supplemental Figure 6A-B**).

Hypoxia is responsible for *Tcap* and *Acta1* upregulation in cardiomyocytes

We then hypothesized that the changes in the cardiomyocyte phenotype observed in *Dhh^{ECKO}* mice could be either due to some modifications in the EC secretome, an indirect consequence of local tissue hypoxia or cardiac inflammation. To test this hypothesis, we first treated mouse adult cardiomyocytes with conditioned medium from *Dhh^{KO}* or control ECs. Conditioned medium from *Dhh^{KO}* ECs rather increased than decreased phosphorylation of PLN (**Supplemental Figure 7A-B**). Also it did not modify

mRNA expression of *Tcap* or *Acta1* (**Supplemental Figure 7C-D**), the 2 genes involved in skeletal myofibril assembly and identified in the RNA sequencing analysis. To test the potential role of hypoxia, primary cultured mouse adult cardiomyocytes were treated or not with CoCl_2 for 5 hours. As positive controls, we first verified Vascular Endothelial Growth Factor A (*Vegfa*) and *Slc2a1* mRNA were increased in CoCl_2 -treated cardiomyocytes (Supplemental Figure 8E-F). CoCl_2 treatment did not diminish PLN phosphorylation; on the contrary, it increased it (**Supplemental Figure 7G-H**). However, CoCl_2 increased *Tcap* and *Acta1* mRNA levels (**Supplemental Figure 7I-J**) suggesting local tissue hypoxia is responsible for *Tcap* and *Acta1* upregulation in cardiomyocytes in *Dhh*^{ECKO} mice. CoCl_2 also increased Period Circadian Regulator 2 (*Per2*) mRNA in mouse cardiomyocyte (**Supplemental Figure 7K**). Notably, *Per2* which is also upregulated the heart of *Dhh*^{ECKO} mice (**Supplemental Table 4**) is known to regulate *Tcap* (Podobed et al. 2014). Finally to assess the possible consequences of cardiac inflammation, we treated cardiomyocytes with IL-6 for 5 hours, as shown **Supplemental Figure 7L-M**, IL-6 significantly decreased phosphorylation of PLN on Threonine 17. Moreover IL-6 also increased expression of Neurogranin mRNA (*Nrgn*) **Supplemental Figure 7N**. Interestingly, NRGN of which mRNA expression is upregulated in the heart of *Dhh*^{ECKO} mice (**Supplemental Table 4**) is known to inhibit CamKII (Jorgensen et al. 2022).

In conclusion, the increased *Tcap* and *Acta1* mRNA expression observed in the heart of *Dhh*^{ECKO} mice is likely to be due to local tissue hypoxia while the decreased phosphorylation of PLN is more likely due to cardiac inflammation and NRGN overexpression.

Diastolic dysfunction in *Dhh*^{ECKO} mice is due to increased capillary thrombosis

*With the aim to test whether the increased thrombi formation in *Dhh*^{ECKO} mice is responsible for diastolic dysfunction, *Dhh*^{ECKO} mice were treated or not with aspirin at a dose of 25 mg/kg/day for 1 month starting the same day they were administered with tamoxifen. First, we verified aspirin treatment did decrease the density of thrombi in the heart (**Figure 6A**). Then we tested whether diastolic function was improved when mice were treated with aspirin. We found aspirin-treatment significantly reduced EDP in *Dhh*^{ECKO} mice (**Figure 6B**). Tau was also diminished without reaching significance (**Figure 6C**). These results indicate for the first time that thrombosis, which impairs the perfusion of 10% of the cardiac capillaries, contributes to diastolic dysfunction in *Dhh*^{ECKO} mice. Consistent with improved heart function, *Dhh*^{ECKO} mice treated with aspirin showed significantly improved exercise tolerance when submitted to the treadmill test (**Figure 6D**). At tissue level the improved diastolic function in *Dhh*^{ECKO} mice treated with aspirin was associated with diminished leukocyte infiltration (**Figure 6E**) and decreased perivascular fibrosis (**Figure 6F**) while the increased vascular leakage was not corrected (**Figure 6G**).*

Antiplatelet therapies prevent the occurrence of diastolic dysfunction in *Lepr^{db/db}* mice

Finally, in order to test whether the results we obtained in *Dhh^{ECKO}* mice were also relevant in *Lepr^{db/db}* mice; we first quantified thrombi in the heart and *Lepr^{db/db}* female mice and in their control littermate. We found that thrombi density was significantly increased in the heart of *Lepr^{db/db}* mice in comparison to control mice (**Figure 7A-B**) and associated with increased HIF1A levels (**Figure 7C-D**). Then, we used two antiplatelet therapies to test whether thrombi formation participated in the pathophysiology of diastolic dysfunction in these mice. *Lepr^{db/db}* mice were either treated with aspirin (25 mg/kg/day) or clopidogrel (5 mg/kg/day) for 28 days starting at 8 weeks of age. We found that *Lepr^{db/db}* mice treated with either aspirin or clopidogrel showed significantly decreased EDP in comparison to vehicle-treated mice (**Figure 7E**). Consistently, aspirin and clopidogrel-treated *Lepr^{db/db}* mice also showed improved Tau (**Figure 7F**) and significantly increased exercise tolerance (**Figure 7G**).

DISCUSSION

The present study highlights for the first time the critical role of small vessel thrombosis in the pathophysiology of diastolic dysfunction and identifies an original mechanism involving a HH signaling impairment in ECs. Notably, endothelial dysfunction has been proposed to be responsible for HFpEF about 10 years ago in the paradigm proposed by Paulus et al in 2013 (W. J. Paulus and Tschope 2013), however, the pro-thrombotic phenotype of ECs has never been considered as a pathophysiological mechanism responsible for diastolic dysfunction.

Mechanistically, our study reveals that *Hhip1*, a gene previously associated with cardiovascular diseases (Schunkert et al., n.d.) and cardio metabolic risk parameters (Rodríguez-Pérez et al. 2018b) in genome wide association studies in human is upregulated in *Lepr^{db/db}* diabetic obese mice. *HHIPL1* overexpression negatively regulates DHH-induced signaling in ECs, which causes VWF release and promotes thrombosis notably in the coronary microvasculature. The subsequent impaired capillary perfusion induces cardiac hypoxia and inflammation which affects cardiomyocyte biology and impairs cardiac relaxation. Indeed, in *Dhh^{ECKO}* mice, cardiomyocytes display decreased phosphorylation of PLN on thr17 and impaired cardiomyocyte contractility. Importantly, we used SMO conditional KO mice and performed *in vitro* experiments to demonstrate that diastolic dysfunction occurs because of impaired HH signaling in ECs and that cardiac hypoxia and inflammation are likely responsible for impaired cardiomyocyte relaxation.

Interestingly, even though small vessel thrombosis have never been involved in the pathophysiology of HFpEF before, several recent clinical studies have revealed either that platelet indices notably the mean platelet volume and the platelet to leucocyte ratio (Dahlen et al. 2021) or VWF levels (Abudoukelimu et al. 2022b) (Kleber et al. 2015b) are strongly associated with worse patient outcome in HFpEF. Consistently, circulating P-selectin level has been shown to be a predictor of mortality in HFpEF (Kanagala et al. 2021). This data fully support the relevance of our data.

We previously demonstrated that HH signaling, especially DHH-induced signaling in ECs, is critical for endothelium integrity in adult mice (Caradu, Couffinhal, et al. 2018b). The present study confirms this result and further characterizes DHH effects in ECs. Indeed, we confirmed endothelial-derived DHH is necessary for intercellular junction integrity (Caradu, Couffinhal, et al. 2018c; Hollier et al. 2021b), moreover, we found DHH has antithrombotic properties.

However, we did not confirm DHH decreases the expression of adhesion molecules in ECs (Caradu, Couffinhal, et al. 2018b). On the contrary, we found that DHH, knockdown slightly decreased VCAM1 protein expression while it does not modulate ICAM-1 expression. DHH knockdown did not modulate *Icam1* mRNA level; it significantly decreased *Vcam1* and Selectin E (*Sele*) levels (data not shown). However, consistent with our previous investigation, we found that *Dhh*^{ECKO} mice have a pro-adhesive endothelium and display increased leucocyte infiltration in the heart. The increased adhesive properties of *Dhh* KO ECs may then be due to the increased VWF release (Chauhan et al. 2008). Alternatively, activated platelets may promote monocyte adhesion on the endothelium by releasing CCL5 (von Hundelshausen et al. 2001b) which is consistent with the increased levels of CCL5 we observed in the heart of *Dhh*^{ECKO} mice.

Considering the critical role of DHH in maintaining endothelial integrity, impaired HH signaling in adults may participate in the pathophysiology of multiple cardiovascular and cerebrovascular diseases. Notably, we and other previously demonstrated impaired DHH-induced signaling may participate in the pathophysiology of diabetic neuropathy (C. Chapouly et al. 2016; Calcutt et al. 2003a). Also we found that the deregulation of HH signaling at the blood brain barrier participate in the pathophysiology of multiple sclerosis (Hollier et al. 2021b; Mora et al. 2020b). The present study identifies the critical role of DHH induced signaling in the adult heart.

Regulation of DHH binding with its receptor Patched-1 (PTCH1) is controlled by multiple co-receptors (Candice Chapouly et al. 2020a) but also by the other HH ligands including Sonic Hedgehog (SHH) (Hollier et al. 2021b). SHH has often been shown to be upregulated in several acute stress conditions (Hollier et al. 2021b; M. A. Renault et al. 2013), however, the mechanism by which it occurs is unknown. We previously demonstrated Cell Adhesion Associated, Oncogene Regulated (CDON), a decoy receptor for DHH is upregulated by inflammatory cytokines (Candice Chapouly et al. 2020a). HHIPL1, another decoy receptor for DHH was shown to be upregulated in atherosclerotic plaques (Aravani et al. 2019b). In the present study, we found that it is also upregulated in *Lepr*^{db/db} mice, in some perivascular cells that remain to be identified. In summary the mechanisms leading to impaired DHH-induced signaling in ECs are multiple and still poorly understood, therefore, DHH-induced signaling impairment is still difficult to predict but should be considered as an important actor of cardiovascular and cerebrovascular diseases.

We previously demonstrated that the pathophysiology of diastolic dysfunction in $Lepr^{db/db}$ mice involves mast cell activation and histamine release (Guimbal et al. 2021c). Interestingly histamine is a well-known factor inducing Weibel-Palade bodies fusion with the plasma membrane and the release of their contents into the blood circulation (van Mourik, Romani de Wit, and Voorberg 2002), subjecting abnormal mast cells activation might work together with impaired HH signaling to favor small vessel thrombosis and diastolic dysfunction in $Lepr^{db/db}$ mice.

In conclusion, the present study characterizes an original mechanism contributing to the pathophysiology of diastolic dysfunction in $Lepr^{db/db}$ mice and identifies thrombosis as a new therapeutic target for HFpEF patient care.

Acknowledgments

We thank Annabel Reynaud, Sylvain Grolleau, and Maxime David for their technical help.

This work benefited from equipment and services from the iGenSeq (RNA sequencing) and iCONICS (RNAseq analysis) core facilities at the ICM (Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, Hôpital Pitié-Salpêtrière, PARIS, France).

Sources of funding

This study was supported by grants from the Fondation pour la Recherche Médicale (équipe FRM), the Agence Nationale pour la Recherche (Appel à Projet Générique) and the Région Nouvelle Aquitaine. Additionally, this study was co-funded by the “*Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale*” (Inserm), and by the University of Bordeaux.

Disclosures

none

References

1. Zhou Y, Zhu Y, Zeng J. Research Update on the Pathophysiological Mechanisms of Heart Failure with Preserved Ejection Fraction. *Curr Mol Med*. 2021;
2. Lyle MA, Brozovich FV. HFpEF, a Disease of the Vasculature: A Closer Look at the Other Half. *Mayo Clin Proc*. 2018;93:1305–1314.
3. Groenewegen A, Rutten FH, Mosterd A, Hoes AW. Epidemiology of heart failure. *Eur J Heart Fail*. 2020;22:1342–1356.
4. Paulus WJ, Tschope C. A novel paradigm for heart failure with preserved ejection fraction: comorbidities drive myocardial dysfunction and remodeling through coronary microvascular endothelial inflammation. *J Am Coll Cardiol*. 2013;62:263–71.
5. He X, Zeng H, Chen ST, Roman RJ, Aschner JL, Didion S, Chen J-X. Endothelial Specific SIRT3 Deletion Impairs Glycolysis and Angiogenesis and Causes Diastolic Dysfunction. *J Mol Cell Cardiol*. 2017;112:104–113.
6. Zeng H, He X, Chen J-X. A Sex-Specific Role of Endothelial Sirtuin 3 on Blood Pressure and Diastolic Dysfunction in Female Mice. *Int J Mol Sci*. 2020;21:9744.
7. Maizel J, Xavier S, Chen J, Lin CHS, Vasko R, Goligorsky MS. Sirtuin 1 ablation in endothelial cells is associated with impaired angiogenesis and diastolic dysfunction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2014;307:H1691–H1704.
8. Dhot J, M F, V P, A P, D R, D S, D G, N P, V A, A E, G T, M E, A T, A G, L T, S M, I A, Jn T, M S, M DW, B R, B L, C G. Overexpression of endothelial β 3 -adrenergic receptor induces diastolic dysfunction in rats. *ESC heart failure* [Internet]. 2020 [cited 2021 Dec 7];7. Available from: <http://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33034410/>
9. Abelanet A, Camoin M, Rubin S, Bougaran P, Delobel V, Pernot M, Forfar I, Guilbeau-Frugier C, Galès C, Bats ML, Renault M-A, Dufourcq P, Couffignal T, Duplâa C. Increased Capillary Permeability in Heart Induces Diastolic Dysfunction Independently of Inflammation, Fibrosis, or Cardiomyocyte Dysfunction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2022;101161ATVBAHA121317319.
10. Cornuault L, Rouault P, Duplâa C, Couffignal T, Renault M-A. Endothelial Dysfunction in Heart Failure With Preserved Ejection Fraction: What are the Experimental Proofs? *Frontiers in Physiology* [Internet]. 2022 [cited 2022 Jul 8];13. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2022.906272>
11. Caradu C, Couffignal T, Chapouly C, Guimbal S, Hollier P-L, Ducasse E, Bura-Rivière A, Dubois M, Gadeau A-P, Renault M-A. Restoring Endothelial Function by Targeting Desert Hedgehog Downstream of Klf2 Improves Critical Limb Ischemia in Adults. *Circ Res*. 2018;123:1053–1065.

12. Aravani D, Morris GE, Jones PD, Tattersall HK, Karamanavi E, Kaiser MA, Kostogrys RB, Ghaderi Najafabadi M, Andrews SL, Nath M, Ye S, Stringer EJ, Samani NJ, Webb TR. HHIPL1, a Gene at the 14q32 Coronary Artery Disease Locus, Positively Regulates Hedgehog Signaling and Promotes Atherosclerosis. *Circulation*. 2019;140:500–513.
13. Azzoni E, Conti V, Campana L, Dellavalle A, Adams RH, Cossu G, Brunelli S. Hemogenic endothelium generates mesoangioblasts that contribute to several mesodermal lineages in vivo. *Development*. 2014;141:1821–34.
14. Chapouly C, Hollier P-L, Guimbal S, Cornuault L, Gadeau A-P, Renault M-A. Desert Hedgehog-Driven Endothelium Integrity Is Enhanced by Gas1 (Growth Arrest-Specific 1) but Negatively Regulated by Cdon (Cell Adhesion Molecule-Related/Downregulated by Oncogenes). *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2020;40:e336–e349.
15. Renault MA, Roncalli J, Tongers J, Misener S, Thorne T, Jujo K, Ito A, Clarke T, Fung C, Millay M, Kamide C, Scarpelli A, Klyachko E, Losordo DW. The Hedgehog transcription factor Gli3 modulates angiogenesis. *Circ Res*. 2009;105:818–26.
16. Roncalli J, Renault MA, Tongers J, Misener S, Thorne T, Kamide C, Jujo K, Tanaka T, li M, Klyachko E, Losordo DW. Sonic hedgehog-induced functional recovery after myocardial infarction is enhanced by AMD3100-mediated progenitor-cell mobilization. *J Am Coll Cardiol*. 2011;57:2444–52.
17. Schiller NB, Shah PM, Crawford M, DeMaria A, Devereux R, Feigenbaum H, Gutgesell H, Reichek N, Sahn D, Schnittger I. Recommendations for quantitation of the left ventricle by two-dimensional echocardiography. American Society of Echocardiography Committee on Standards, Subcommittee on Quantitation of Two-Dimensional Echocardiograms. *J Am Soc Echocardiogr*. 1989;2:358–367.
18. Dumas de la Roque E, Smeralda G, Quignard J-F, Freund-Michel V, Courtois A, Marthan R, Muller B, Guibert C, Dubois M. Altered vasoreactivity in neonatal rats with pulmonary hypertension associated with bronchopulmonary dysplasia: Implication of both eNOS phosphorylation and calcium signaling. *PLoS One*. 2017;12:e0173044.
19. Andrews S. FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data. 2010;
20. Bolger AM, Lohse M, Usadel B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*. 2014;30:2114–2120.
21. Dobin A, Davis CA, Schlesinger F, Drenkow J, Zaleski C, Jha S, Batut P, Chaisson M, Gingeras TR. STAR: ultrafast universal RNA-seq aligner. *Bioinformatics*. 2013;29:15–21.
22. Robinson MD, McCarthy DJ, Smyth GK. edgeR: a Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data. *Bioinformatics*. 2010;26:139–140.
23. Caradu C, Couffinal T, Chapouly C, Guimbal S, Hollier P-L, Ducasse E, Bura-Rivière A, Dubois M, Gadeau A-P, Renault M-A. Restoring Endothelial Function by Targeting Desert Hedgehog Downstream of Klf2 Improves Critical Limb Ischemia in Adults. *Circ Res*. 2018;123:1053–1065.

24. Kogerman P, Krause D, Rahnama F, Kogerman L, Undén AB, Zaphiropoulos PG, Toftgård R. Alternative first exons of PTCH1 are differentially regulated in vivo and may confer different functions to the PTCH1 protein. *Oncogene*. 2002;21:6007–6016.
25. Low WC, Wang C, Pan Y, Huang XY, Chen JK, Wang B. The decoupling of Smoothed from Galphai proteins has little effect on Gli3 protein processing and Hedgehog-regulated chick neural tube patterning. *Developmental biology*. 2008;321:188–96.
26. Guimbal S, Cornuault L, Rouault P, Hollier P-L, Chapouly C, Bats M-L, Imbault J, Gadeau A-P, Couffignal T, Renault M-A. Mast Cells Are the Trigger of Small Vessel Disease and Diastolic Dysfunction in Diabetic Obese Mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2021;41:e193–e207.
27. Schunkert H, König IR, Kathiresan S, Reilly MP, Assimes TL, Holm H, Preuss M, Stewart AFR, Barbalic M, Gieger C, Absher D, Aherrahrou Z, Allayee H, Altshuler D, Anand SS, Andersen K, Anderson JL, Ardissino D, Ball SG, Balmforth AJ, Barnes TA, Becker DM, Becker LC, Berger K, Bis JC, Boekholdt SM, Boerwinkle E, Braund PS, Brown MJ, Burnett MS, Buyschaert I, Cardiogenics, Carlquist JF, Chen L, Cichon S, Codd V, Davies RW, Dedoussis G, Dehghan A, Demissie S, Devaney JM, Diemert P, Do R, Doering A, Eifert S, Mokhtari NEE, Ellis SG, Elosua R, Engert JC, Epstein SE, de Faire U, Fischer M, Folsom AR, Freyer J, Gigante B, Girelli D, Gretarsdottir S, Gudnason V, Gulcher JR, Halperin E, Hammond N, Hazen SL, Hofman A, Horne BD, Illig T, Iribarren C, Jones GT, Jukema JW, Kaiser MA, Kaplan LM, Kastelein JJP, Khaw K-T, Knowles JW, Kolovou G, Kong A, Laaksonen R, Lambrechts D, Leander K, Lettre G, Li M, Lieb W, Loley C, Lotery AJ, Mannucci PM, Maouche S, Martinelli N, McKeown PP, Meisinger C, Meitinger T, Melander O, Merlini PA, Mooser V, Morgan T, Mühleisen TW, Muhlestein JB, Münzel T, Musunuru K, Nahrstaedt J, et al. Large-scale association analysis identifies 13 new susceptibility loci for coronary artery disease. *Nat Genet*. 2011;43:333–338.
28. Makarenko I, Opitz CA, Leake MC, Neagoe C, Kulke M, Gwathmey JK, del Monte F, Hajjar RJ, Linke WA. Passive stiffness changes caused by upregulation of compliant titin isoforms in human dilated cardiomyopathy hearts. *Circ Res*. 2004;95:708–716.
29. Vigil-Garcia M, Demkes CJ, Eding JEC, Versteeg D, de Ruiter H, Perini I, Kooijman L, Gladka MM, Asselbergs FW, Vink A, Harakalova M, Bossu A, van Veen TAB, Boogerd CJ, van Rooij E. Gene expression profiling of hypertrophic cardiomyocytes identifies new players in pathological remodelling. *Cardiovasc Res*. 2021;117:1532–1545.
30. Podobed PS, Alibhai FJ, Chow C-W, Martino TA. Circadian regulation of myocardial sarcomeric Titin-cap (Tcap, telethonin): identification of cardiac clock-controlled genes using open access bioinformatics data. *PLoS One*. 2014;9:e104907.
31. Jorgensen AN, Abdullah CS, Bhuiyan MS, Watt M, Dominic P, Kolluru GK, Keval CG, Nam HW. Neurogranin regulates calcium-dependent cardiac hypertrophy. *Exp Mol Pathol*. 2022;127:104815.
32. Schunkert H, König IR, Kathiresan S, Reilly MP, Assimes TL, Holm H, Preuss M, Stewart AFR, Barbalic M, Gieger C, Absher D, Aherrahrou Z, Allayee H, Altshuler D, Anand SS, Andersen K, Anderson

JL, Ardissino D, Ball SG, Balmforth AJ, Barnes TA, Becker DM, Becker LC, Berger K, Bis JC, Boekholdt SM, Boerwinkle E, Braund PS, Brown MJ, Burnett MS, Buyschaert I, Cardiogenics JFC, Chen L, Cichon S, Codd V, Davies RW, Dedoussis G, Dehghan A, Demissie S, Devaney JM, Do R, Doering A, Eifert S, Mokhtari NEE, Ellis SG, Elosua R, Engert JC, Epstein SE, Faire U de, Fischer M, Folsom AR, Freyer J, Gigante B, Girelli D, Gretarsdottir S, Gudnason V, Gulcher JR, Halperin E, Hammond N, Hazen SL, Hofman A, Horne BD, Illig T, Iribarren C, Jones GT, Jukema JW, Kaiser MA, Kaplan LM, Kastelein JJP, Khaw K-T, Knowles JW, Kolovou G, Kong A, Laaksonen R, Lambrechts D, Leander K, Lettre G, Li M, Lieb W, Linsel-Nitschke P, Loley C, Lotery AJ, Mannucci PM, Maouche S, Martinelli N, McKeown PP, Meisinger C, Meitinger T, Melander O, Merlini PA, Mooser V, Morgan T, Mühleisen TW, Muhlestein JB, Münzel T, Musunuru K, Nahrstaedt J, Nelson CP, et al. Large-scale association analyses identifies 13 new susceptibility loci for coronary artery disease. *Nature genetics*. 43:333.

33. Rodríguez-Pérez JM, Posadas-Sánchez R, Blachman-Braun R, Vargas-Alarcón G, Posadas-Romero C, Rodríguez-Cortés AA, López-Bautista F, Tovilla-Zárate CA, Rojas-Toledo EX, Borgonio-Cuadra VM, Pérez-Hernández N. HHIPL-1 (rs2895811) gene polymorphism is associated with cardiovascular risk factors and cardiometabolic parameters in Mexicans patients with myocardial infarction. *Gene*. 2018;663:34–40.

34. Dahlen B, Schulz A, Göbel S, Tröbs S-O, Schwuchow-Thonke S, Spronk HM, Prochaska JH, Arnold N, Lackner KJ, Gori T, Ten Cate H, Münzel T, Wild PS, Panova-Noeva M. The impact of platelet indices on clinical outcome in heart failure: results from the MyoVasc study. *ESC Heart Fail*. 2021;8:2991–3001.

35. Abudoukelimu M, Ba B, Kai Guo Y, Xu J. Von Willebrand factor (vWF) in patients with heart failure with preserved ejection fraction (HFpEF): A retrospective observational study. *Medicine (Baltimore)*. 2022;101:e29854.

36. Kleber ME, Koller L, Goliash G, Sulzgruber P, Scharnagl H, Silbernagel G, Grammer TB, Delgado G, Tomaschitz A, Pilz S, März W, Niessner A. Von Willebrand factor improves risk prediction in addition to N-terminal pro-B-type natriuretic peptide in patients referred to coronary angiography and signs and symptoms of heart failure and preserved ejection fraction. *Circ Heart Fail*. 2015;8:25–32.

37. Kanagala P, Arnold JR, Khan JN, Singh A, Gulsin GS, Squire IB, McCann GP, Ng LL. Plasma P-selectin is a predictor of mortality in heart failure with preserved ejection fraction. *ESC Heart Fail*. 2021;8:2328–2333.

38. Hollier P-L, Chapouly C, Diop A, Guimbal S, Cornuault L, Gadeau A-P, Renault M-A. Full-length Dhh and N-terminal Shh act as competitive antagonists to regulate angiogenesis and vascular permeability. *Cardiovasc Res*. 2021;117:2489–2501.

39. Chauhan AK, Kisucka J, Brill A, Walsh MT, Scheiflinger F, Wagner DD. ADAMTS13: a new link between thrombosis and inflammation. *J Exp Med*. 2008;205:2065–2074.

40. von Hundelshausen P, Weber KS, Huo Y, Proudfoot AE, Nelson PJ, Ley K, Weber C. RANTES deposition by platelets triggers monocyte arrest on inflamed and atherosclerotic endothelium. *Circulation*. 2001;103:1772–1777.
41. Chapouly C, Yao Q, Vandierdonck S, Larrieu-Lahargue F, Mariani JN, Gadeau AP, Renault MA. Impaired Hedgehog signalling-induced endothelial dysfunction is sufficient to induce neuropathy: implication in diabetes. *Cardiovascular research*. 2016;109:217–27.
42. Calcutt NA, Allendoerfer KL, Mizisin AP, Middlemas A, Freshwater JD, Burgers M, Ranciato R, Delcroix JD, Taylor FR, Shapiro R, Strauch K, Dudek H, Engber TM, Galdes A, Rubin LL, Tomlinson DR. Therapeutic efficacy of sonic hedgehog protein in experimental diabetic neuropathy. *J Clin Invest*. 2003;111:507–14.
43. Mora P, Hollier P-L, Guimbal S, Abelanet A, Diop A, Cornuault L, Couffinhal T, Horng S, Gadeau A-P, Renault M-A, Chapouly C. Blood–brain barrier genetic disruption leads to protective barrier formation at the Glia Limitans. *PLoS Biol*. 2020;18:e3000946.
44. Renault MA, Chapouly C, Yao Q, Larrieu-Lahargue F, Vandierdonck S, Reynaud A, Petit M, Jaspard-Vinassa B, Belloc I, Traiffort E, Ruat M, Duplaa C, Couffinhal T, Desgranges C, Gadeau AP. Desert hedgehog promotes ischemia-induced angiogenesis by ensuring peripheral nerve survival. *Circ Res*. 2013;112:762–70.
45. Guimbal S, Cornuault L, Rouault P, Hollier P-L, Chapouly C, Bats M-L, Imbault J, Gadeau A-P, Couffinhal T, Renault M-A. Mast Cells Are the Trigger of Small Vessel Disease and Diastolic Dysfunction in Diabetic Obese Mice. *ATVB* [Internet]. 2021 [cited 2021 Mar 30];41. Available from: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/ATVBAHA.121.315900>
46. van Mourik JA, Romani de Wit T, Voorberg J. Biogenesis and exocytosis of Weibel-Palade bodies. *Histochem Cell Biol*. 2002;117:113–122.

FIGURES AND FIGURE LEGENDS

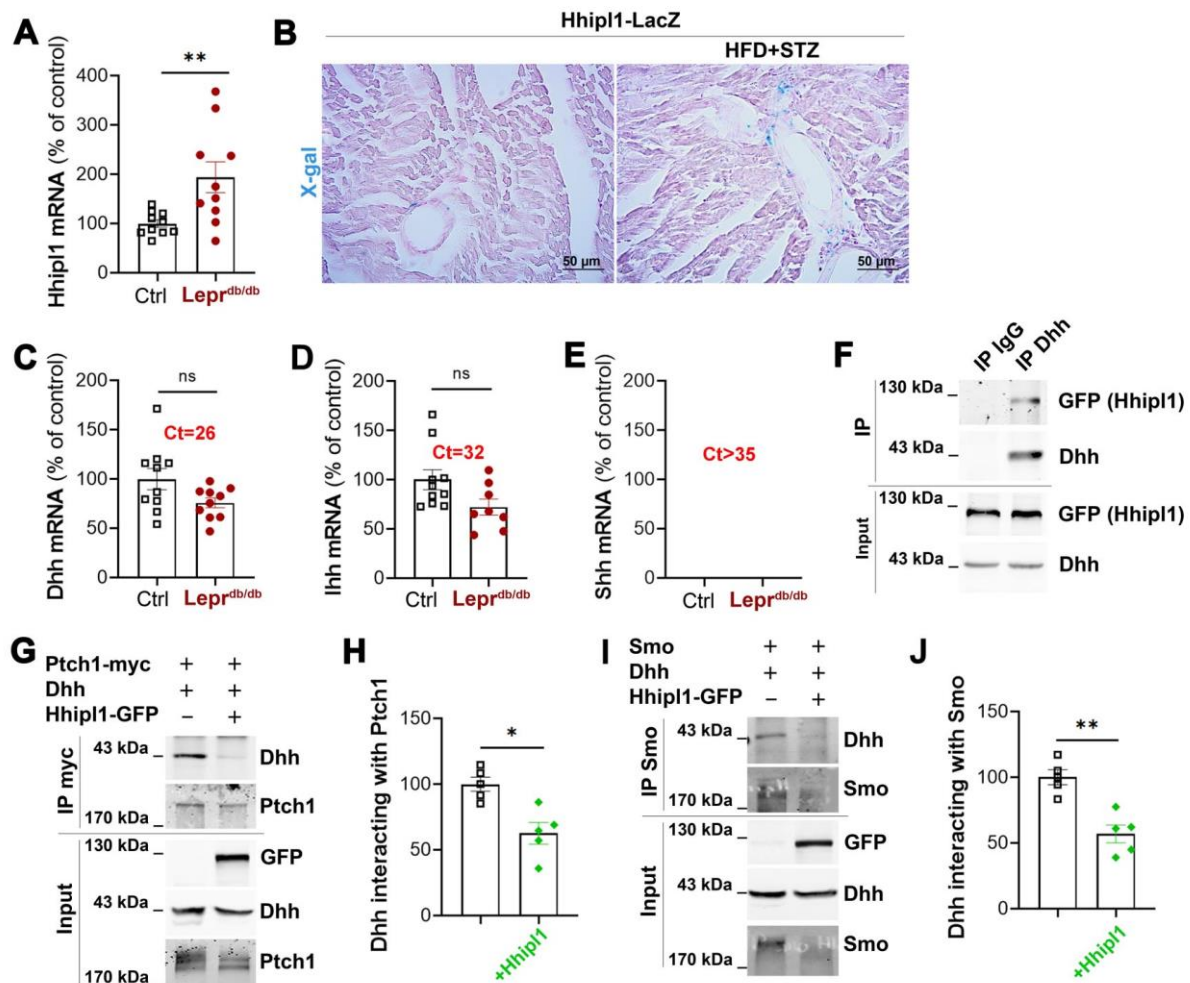


Figure 1: *Lepr^{db/db}* mice display impaired HH signaling in the heart. (A) *Lepr^{db/db}* female mice and their control (*Lepr^{db/+}*) littermate were sacrificed at 3 months of age. *Hhip1* mRNA expression was quantified by RT-qPCR in total heart extract and normalized to *Actb* mRNA (n=10 mice per group). (B) 8-week old *Hhip1*-LacZ female mice were fed or not with a HFD and treated with low doses STZ. Mice were sacrificed at 20 weeks of age. Heart cross sections were stained with X-gal. Representative images are shown. (C-E) *Lepr^{db/db}* female mice and their control littermate were sacrificed at 3 months of age. (C) *Dhh*, (D) *Ihh* and (E) *Shh* mRNA expression were quantified by RT-qPCR in total heart extract and normalized to *Actb* mRNA (n=10 mice per group). (F) HeLa cells were co-transfected with *Hhip1*-GFP and FL-*Dhh* encoding plasmids. *Dhh* interaction with *Hhip1* was assessed by co-immunoprecipitation assay. (G-H) HeLa cells were co-transfected *Ptch1*-myc and FL-*Dhh* encoding plasmids together with or without *Hhip1*-GFP encoding plasmids. (G) *DHH* interaction with *PTCH1* was assessed by co-immunoprecipitation assay and (H) quantified using Image J software. The experiment was repeated 5 times. (I-J) HeLa cells were co-transfected *Smo* and FL-*Dhh* encoding plasmids together with or without *Hhip1*-GFP encoding plasmids. (I) *DHH* interaction with *SMO* was assessed by co-immunoprecipitation assay and (J) quantified using Image J software. The experiment was repeated 5 times. *: p \leq 0.05; **: p \leq 0.01; Mann-Whitney test.

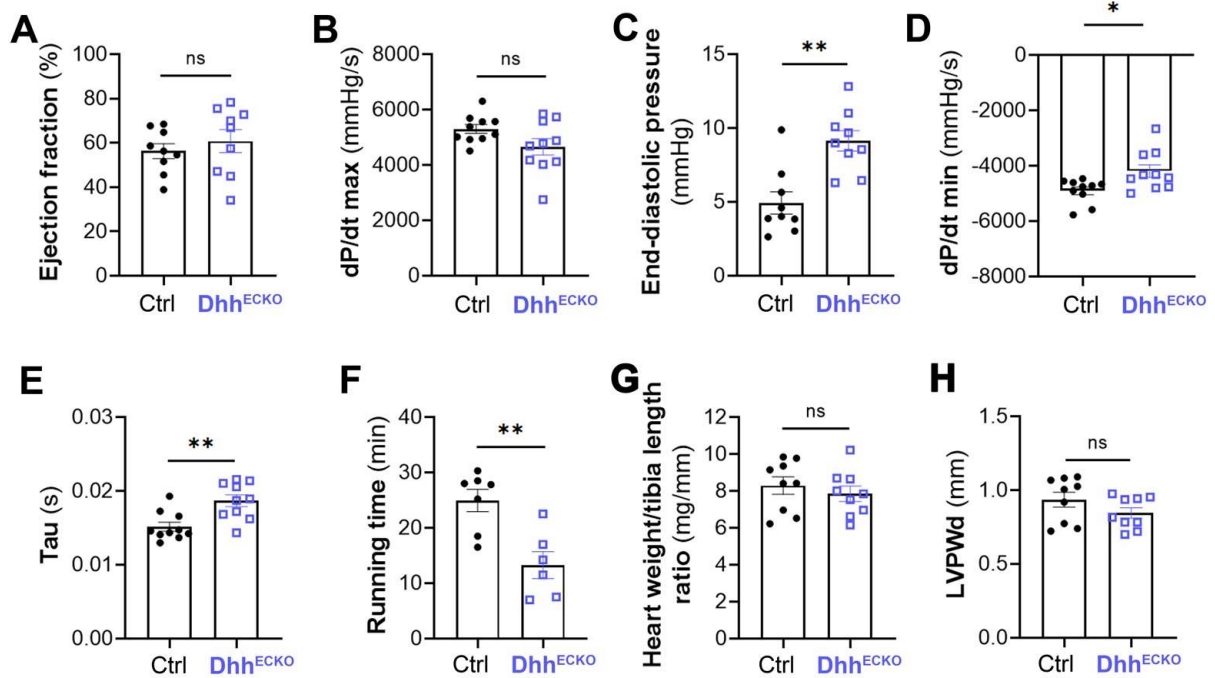


Figure 2: *Dhh*^{ECKO} mice develop diastolic dysfunction. *Cdh5-Cre/ERT2; Dhh*^{Flox/Flox} (*Dhh*^{ECKO}) mice and their control littermate (*Dhh*^{Flox/Flox}) were administered with tamoxifen at 8 weeks of age. Their cardiac function was assessed one month later. (A) Ejection fraction was assessed via echocardiography (n= 10 mice per group). (B) dP/dt maximum was measured by left ventricular catheterization (n= 10 mice per group) (C) LV end diastolic pressure (EDP) was measured by left ventricular catheterization (n=10 mice per group). (D) dP/dt minimum was measured by left ventricular catheterization (n= 10 mice per group). (E) Tau was measured by left ventricular catheterization (n=10 mice per group). (F) Running time was assessed on treadmill (n=6 and 7 mice per group). (G) The heart weight over tibia length ratio was calculated (n=10 mice per group). (H) Diastolic left ventricular posterior wall (LVPWd) thickness was measured by echocardiography (n=10 mice per group). *: p≤0.05; **: p≤0.01; ns: not significant; Mann-Whitney test.

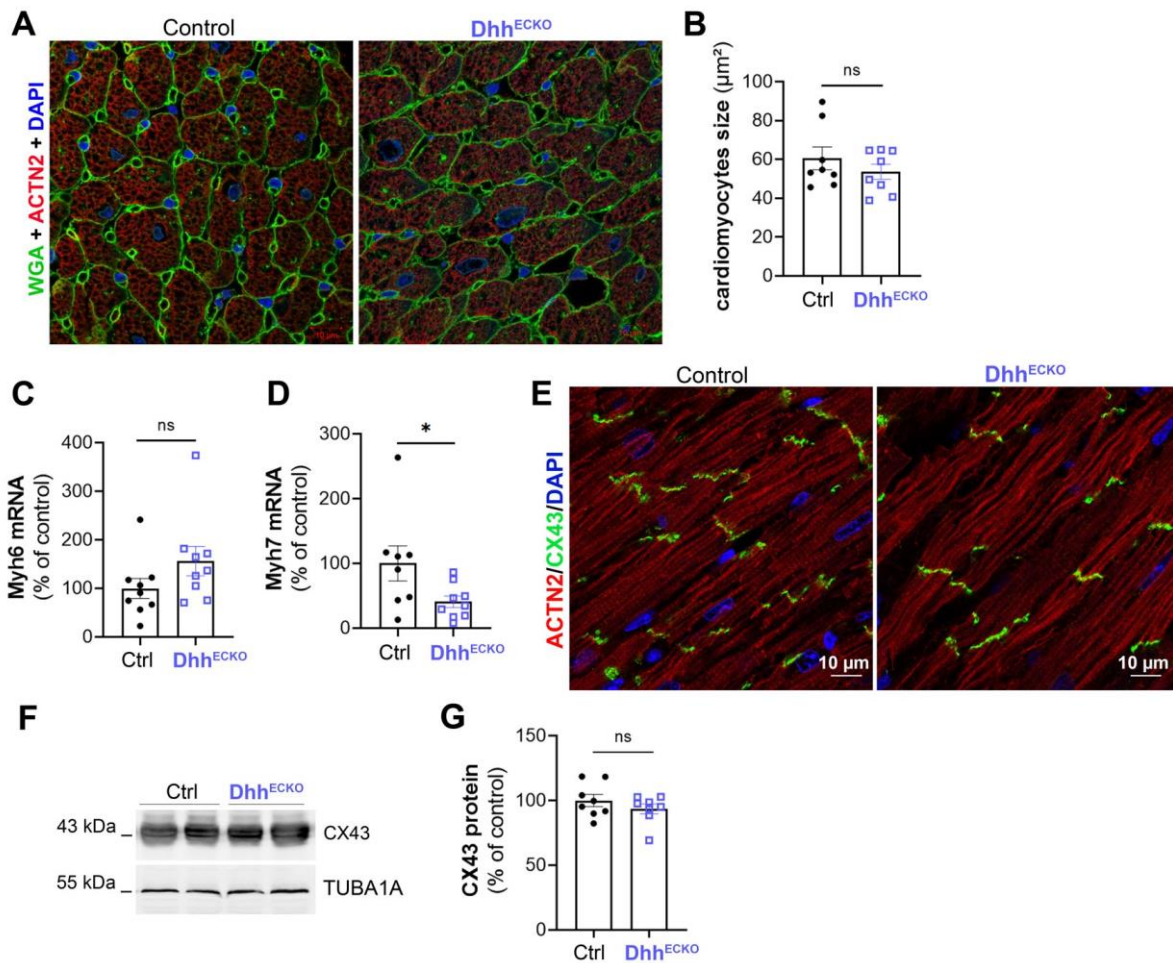


Figure 3: *Dhh*^{ECKO} mice do not display cardiomyocyte hypertrophy. *Cdh5-Cre/ERT2; Dhh*^{Flox/Flox} (*Dhh*^{ECKO}) mice and their control littermate (*Dhh*^{Flox/Flox}) were administered with tamoxifen at 8 weeks of age and sacrificed at 12 weeks of age. (A) Heart cross sections were co-stained with FITC-labelled WGA and anti-Actinin Alpha 2 (ACTN2) antibodies. (B) Cardiomyocyte cross section area was measured using Image J software (n=8 mouse per group). (C) Myh6 and (D) Myh7 mRNA expression were quantified by RT-qPCR in total heart extract and normalized to *Actb* mRNA (n=8 mice per group). (E) Heart cross sections were co-immunostained with anti-CX43 and anti-ACTN2 antibodies. (F) CX43 protein level was evaluated via western blot analyses and (G) quantified using Image J software (n=8 mice per group). *: p≤0.05; ns: not significant; Mann-Whitney test.

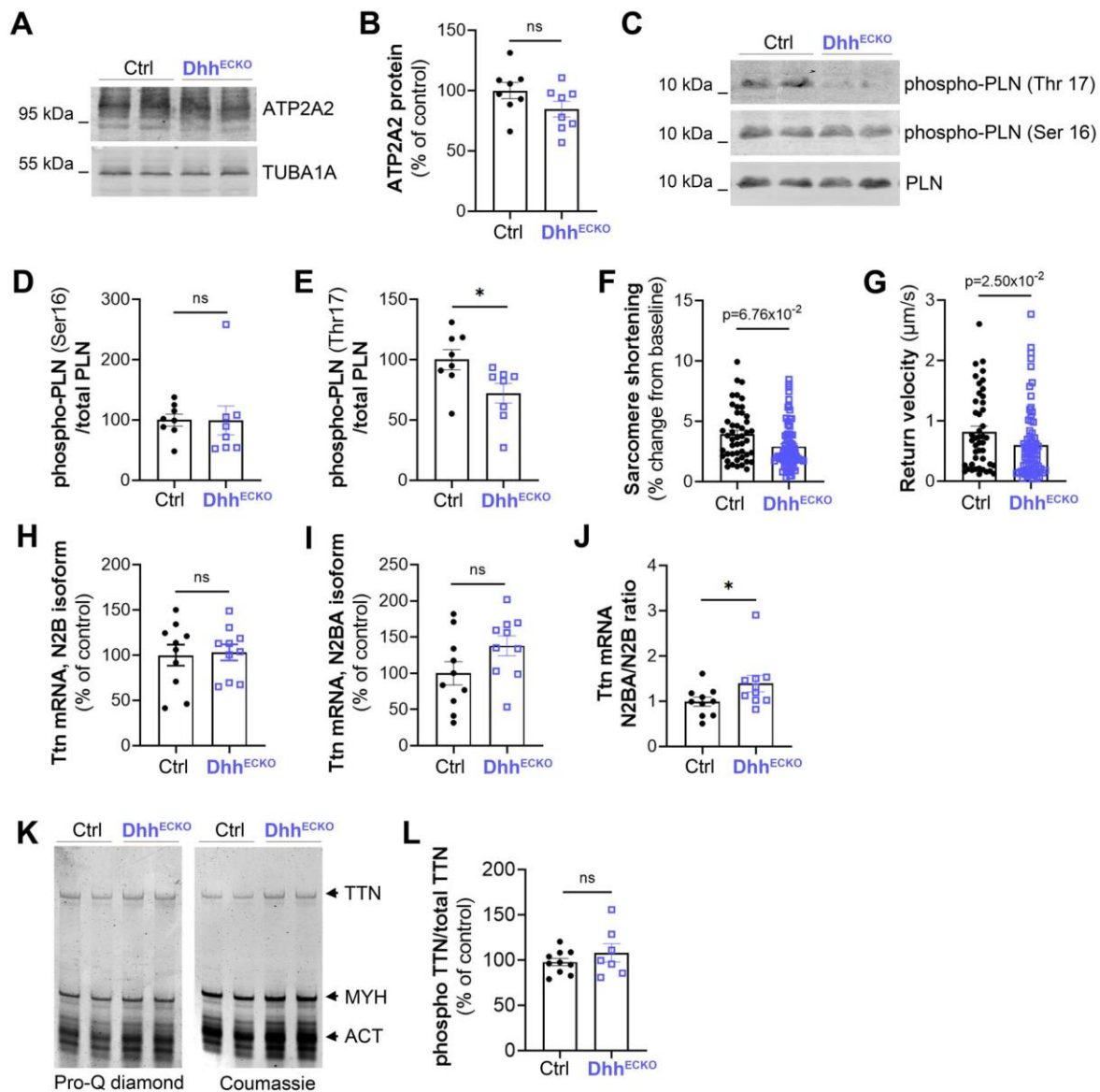


Figure 4: *Dhh^{ECKO}* mice display impaired cardiomyocyte relaxation. *Cdh5-Cre/ERT2; Dhh^{Flox/Flox}* (*Dhh^{ECKO}*) mice and their control littermate (*Dhh^{Flox/Flox}*) were administered with tamoxifen at 8 weeks of age and sacrificed at 12 weeks of age. (A) ATP2A2 protein level was evaluated via western blot analyses and (B) quantified using Image J software (n=8 mouse per group). (C) PLN phosphorylation was assessed by western blot analyses and (D-E) quantified using Image J software (n=8 mouse per group). (F-G) Ventricular cardiomyocyte were isolated. (F) Sarcomere shortening (bl% peak h.) was measured using a video-detection system (MyoCam, IonOptix) (n=10 cardiomyocytes /mice, n=7 and 6 mice per group). (G) Return velocity (Ret v) was measured using a video-detection system (MyoCam, IonOptix) (n=10 cardiomyocytes /mice, n=7 and 6 mice per group). (H) *Ttn* N2B and (I) *Ttn* N2BA mRNA were quantified by RT-qPCR in total heart extract and normalized to *Actb* mRNA (n=10 mice per group) and (J) the ratio N2BA over N2B was calculated. (K) Total heart proteins were separated on a 1% agarose gel and stained either with Pro-Q diamond to identify phosphoproteins or coumassie blue stain to identify total protein. (L) The ratio of phosphorylated TTN over total TTN was quantified and calculated using image J software. *: p < 0.05; ns: not significant; Mann-Whitney test.

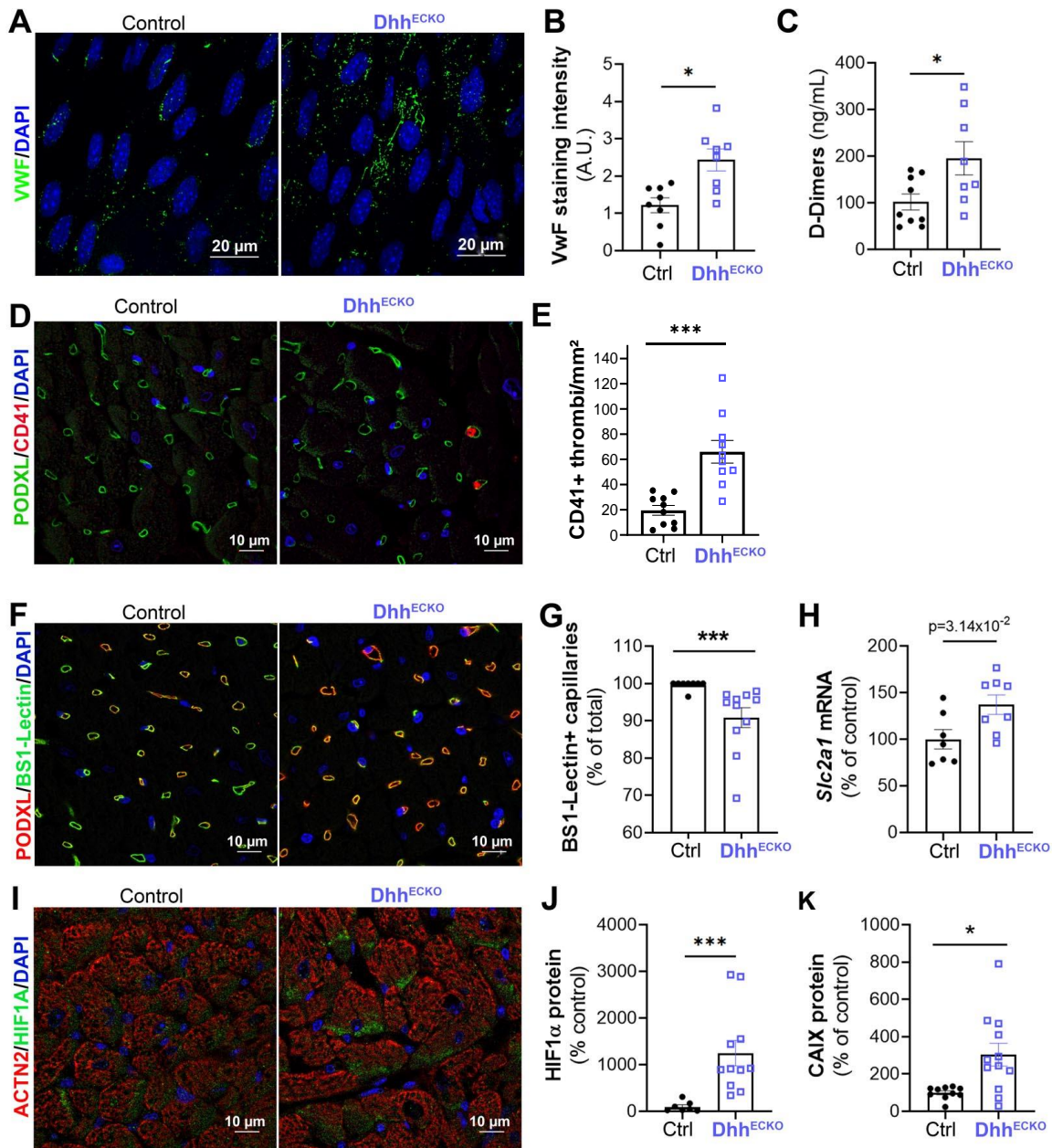


Figure 5: The endothelium of *Dhh*^{ECKO} mice is prothrombotic. *Cdh5*-Cre/ERT2; *Dhh*^{Flox/Flox} (*Dhh*^{ECKO}) mice and their control littermate (*Dhh*^{Flox/Flox}) were administered with tamoxifen at 8 weeks of age and sacrificed at 12 weeks of age. (A) Not permeabilized en face aortas were immunostained with anti-VWF antibodies. (B) Extracellular VWF was quantified using image J software (n=8 mice per group). (C) Circulating D-dimers were quantified via ELISA (n=8 mice per group). (D) Heart cross sections were co-immunostained with anti-CD41 antibodies to identify platelets and anti- Podocalyxin Like (PODXL) antibodies to identify capillaries. (E) The number of CD41+ thrombi per mm² was quantified using image J software (n=9 mice per group). (F-G) Mice were administered intravenously with FITC labelled BS1 lectin 2 minutes before sacrifice. (F) Heart cross sections were co-immunostained with anti-PODXL antibodies to identify total capillaries. (G)The percentage of capillaries perfused with BS1-lectin was quantified using image J software (n=9 mice per group). (H) *Slc2a1* mRNA expression was quantified

via RT-qPCR and normalized to Actb mRNA expression (n=8 and 7 mice per group). (I) Heart cross sections were co-immunostained with anti-HIF1A antibodies to identify hypoxia and anti-ACTN2 antibodies to identify cardiomyocytes. (I) HIF1A protein level was quantified using image J software (n=10 mice per group). (J) Heart cross sections were immunostained with anti-CA9 antibodies to identify hypoxia. (I) CA9 protein level was quantified using image J software (n=10 mice per group). *: p<0.05; ***: p<0.001; Mann-Whitney test.

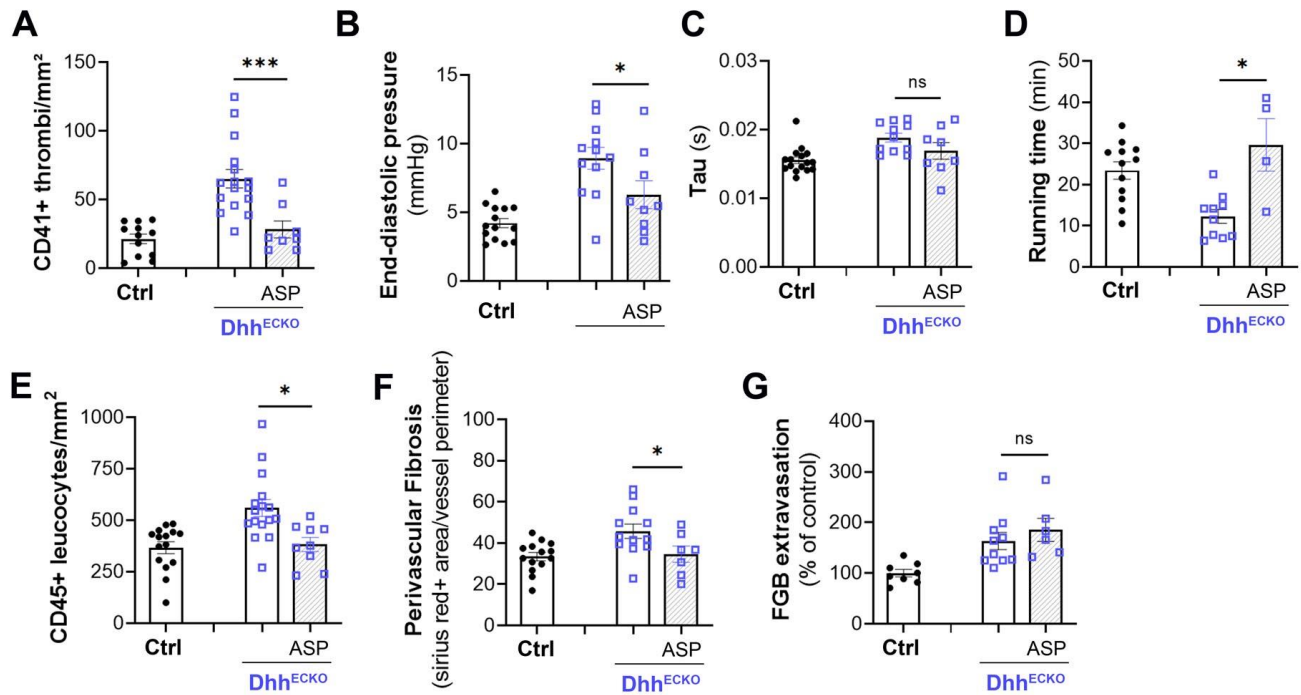


Figure 6: Aspirin prevents the development of diastolic dysfunction in *Dhh*^{ECKO} mice. *Cdh5-Cre/ERT2; Dhh*^{Flox/Flox} (*Dhh*^{ECKO}) mice and their control littermate (*Dhh*^{Flox/Flox}) were administered with tamoxifen at 8 weeks of age and treated or not with aspirin for 28 days. Mice were sacrificed at 12 weeks of age. (A) Heart cross sections were co-immunostained with anti-CD41 antibodies to identify platelets and anti- Podocalyxin Like (PODXL) antibodies to identify capillaries. The number of CD41+ thrombi per mm² was quantified using image J software (n=9 mice per group). (B) LV end diastolic pressure (EDP) was measured by left ventricular catheterization (n=9 mice per group). (C) Tau was measured by left ventricular catheterization (n=8 mice per group). (D) Running time was assessed on treadmill (n=4 and 9 mice per group). (E) Heart cross sections were immunostained with anti-CD45 antibodies to identify leucocytes. The number of CD45+ leucocytes per mm² was quantified using image J software (n=9 mice per group). (F) Heart cross sections were stained Sirius red to identify fibrosis. Perivascular red staining was quantified using image J software (n=7 and 9 mice per group). (E) Heart cross sections were immunostained with anti-FGB antibodies. FGB extravasation was quantified using image J software (n=6 and 9 mice per group). *: p<0.05; ***: p<0.001; ns: not significant. Mann-Whitney test.

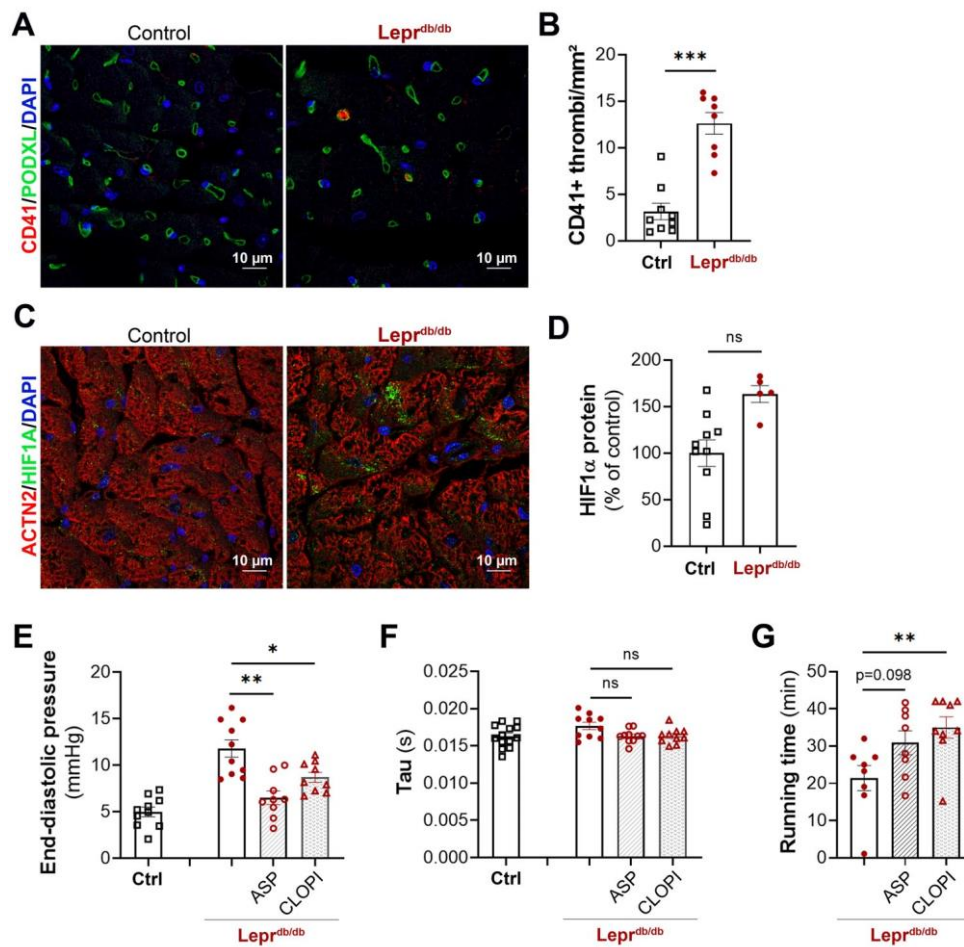


Figure 7: Aspirin and clopidogrel prevent the development of diastolic dysfunction in *Lepr^{db/db}* mice. (A-D) *Lepr^{db/db}* female mice and their control (*Lepr^{db/+}*) littermate were sacrificed at 3 months of age. (A) Heart cross sections were co-immunostained with anti-CD41 antibodies to identify platelets and anti-PODXL antibodies to identify capillaries. (B) The number of CD41+ thrombi per mm² was quantified using image J software (n=8 mice per group). (C) Heart cross sections were co-immunostained with anti-HIF1A antibodies to identify hypoxia and anti-ACTN2 antibodies to identify cardiomyocytes. (D) HIF1A protein level was quantified using image J software (n=5 and 10 mice per group). (E-G) 8 week old *Lepr^{db/db}* female mice and their control (*Lepr^{db/+}*) littermate were treated or not with aspirin or clopidogrel. (E) LV end diastolic pressure (EDP) was measured by left ventricular catheterization (n=9 mice per group). (F) Tau was measured by left ventricular catheterization (n=9 mice per group). (G) Running time was assessed on treadmill (n= 9 mice per group). *: p<0.05; **: p<0.01; ***: p<0.001; ns: not significant; Kruskal-Wallis test with Bonferroni post-hoc.

Full title

Thrombosis in the coronary microvasculature impairs cardiac relaxation and induces diastolic dysfunction

Authors' names, academic degrees, and affiliations

Paul Rouault, MS¹, Sarah Guimbal, PhD¹, Lauriane Cornuault, PhD¹, Célia Bourguignon, MS¹, Ninon Foussard MD¹, Philippe Alzieu, BS¹, Franck Choveau, PhD², David Benoist, PhD², Sylvie Colomer, PharmD PhD¹, Chloé James MD, PhD¹, Candice Chapouly, PharmD, PhD¹ Alain-Pierre Gadeau, PhD¹, Thierry Couffinhal, MD, PhD¹, and Marie-Ange Renault, PhD¹

SUPPLEMENTAL MATERIAL

EXTENDED METHODS

Immunostaining procedure

Hearts were fixed in methanol for 24 to 72 hours. Tissues were paraffin embedded after two 30-minute incubations in Xylene and two 30-minute incubations in paraffin. 7 μ m thick sections were then done using a microtome.

After dewaxing tissues sections, they were rinsed with phosphate-buffered saline (PBS), and incubated for 20 minutes in 3% H₂O₂ containing PBS for 20 minutes at room temperature to inhibit endogenous peroxidase. Next, blocking was done by incubating slides for 30 minutes in PBS containing 10% donkey serum at room temperature. Slides were then incubated with primary antibodies diluted in PBS containing 5% donkey serum and 0.1% Tween 20 for 2 hours at 37°C. After washing the slides 3 times 5 minutes with PBS, they were incubated with the secondary antibodies diluted in PBS containing 5% donkey serum and 0.1% Tween 20 for 1 hour at room temperature. At the end, slides were rinsed 3 times 5 minutes with PBS.

For immunohistochemical analyses, a 3rd step was carried out. e.i. tissues sections were incubated with streptavidin-conjugated Horse radish peroxidase (Amersham) diluted (1/100) in PBS containing 5% donkey serum and 0.1% Tween 20 for 30 minutes at room temperature. Staining was then revealed with a 3,3'-Diaminobenzidine (DAB) substrate kit (Vector Laboratories) and tissue sections were counterstained with hematoxylin before they were mounted with Eukitt.

For immunofluorescent staining, slides were incubated for 30 min in a 70% ethanol bath containing 1 mg/mL of Sudan Black in order to mask tissue auto-fluorescence. Sections were mounted between slide and coverslip in mounting medium containing 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) (Fluoromount-G™, with DAPI, Invitrogen) to label the nuclei.

None of the antibody used in this study required antigen retrieval.

Sirius red staining

After dewaxing tissues sections, they were incubated for 8 minutes in Mayer's hemalun solution (Merck). Next slides were rinsed abundantly in tap water and incubated 1.3% Picric acid (Sigma) containing 0.1% Direct red 80 (Sigma) for 1 hour at room temperature. At the end slides were washed twice with 0.5% acetic acid, dehydrated and mounted in Eukitt.

X-gal staining

For X-gal staining, mice were perfused with LacZ fix solution (PBS containing 0.2% Glutaraldehyde, 5 mmol/L EGTA and 100 mmol/L MgCl₂) before hearts were harvested. 9 μ m thick cryosections were prepared and post-fixed for 10 min in 0.2% glutaraldehyde and then stained overnight at 37°C in X-gal staining solution (1 mg/ml X-gal (Sigma)). Tissue sections were counterstained with nuclear fast red solution (Sigma).

SUPPLEMENTAL TABLES

Target antigen	Vendor or Source	Catalog #	Working concentration
mouse PODXL	R&D systems	AF1556	1 µg/mL
mouse ACTN2	Sigma	A2172	
mouse ICAM-1 (CD54)	BD Pharmingen	550287	2.5 µg/mL
FGB	Abcam	ab227063	
mouse CD41	Invitrogen	PA579527	
mouse CD45	BD Pharmingen	550539	0.625 µg/mL
mouse CX43	Sigma	C6219	
mouse VWF	Sigma	F3520	
mouse HIF1A	Origene	TA336308	
mouse CA9	R&D systems	AF2344	2 µg/mL
human DHH	Santa-Cruz	sc-271168	0.4 µg/mL
human PTCH1	Abcam	ab53715	
human SMO	Santa-Cruz	sc-166685	0.4 µg/mL
GFP	Molecular probe	A 6455	
myc	Millipore	05-724	
NOS3	Cell signaling technology	32027	
mouse ICAM1	R&D systems	AF796	0.4 µg/mL
VCAM1	Abcam	ab134047	
ATP2A2	Badrilla	A010-80	
phospho-PLN (Ser16)	Badrilla	A010-12	
phospho-PLN (Thr17)	Badrilla	A010-13	
total-PLN	Badrilla	A010-14	
TUB1A1	Sigma	T5168	

Supplemental Table 1: List of primary antibodies used for immunostainings

Target antigen	Conjugate	Vendor or Source	Catalog #	Working concentration
Goat IgG	Alexa Fluor 568	Invitrogen	A-11057	10 µg/mL
Rat IgG	Alexa Fluor 647	Invitrogen	A-48265	10 µg/mL
Hamster IgG	Biotin	Jackson ImmunoResearch	127-065-160	Dilution 1/500
Goat IgG	Alexa Fluor 488	Invitrogen	A-11055	10 µg/mL
Rabbit IgG	Alexa Fluor 488	Invitrogen	A-21206	10 µg/mL
Rabbit IgG	Alexa Fluor 568	Invitrogen	A-10042	10 µg/mL
Mouse IgM	Biotin			

Supplemental Table 1: List of secondary antibodies used for immunostainings

mouse Actb	F	5' -GGAGGAAGAGGATGCGGCA-3'	61 bp
	R	5' -GAAGCTGTGCTATGTTGCTCTA-3'	
mouse Hhip1	F	5' -AACGCAACCTGCTGGAGTG-3'	191 bp
	R	5' -CCATCCTGGCTCGTGCATAC-3'	
mouse Dhh	F	5' -CTTGGACATCACCACGTCTG-3'	223 bp
	R	5' -ATGTAGTTCCTCAGCCCT-3'	
mouse lhh	F	5' -TGTCAAGTCTGAGCATTCGG-3'	219 bp
	R	5' -GTCTCGATGACCTGGAAAGC-3'	
mouse Shh	F	5' -GTCGAGCAGTGGACATCACC-3'	170 bp
	R	5' -GAAACAGCCGCCGGATTTGG-3'	
mouse Myh7	F	5' -GGATGACGTCACCTCCAACA-3'	212 bp
	R	5' -AGATCAGAGCCTCCTTCTCGT-3'	
mouse Myh6	F	5' -CCCTGGACAAGAAGCAGAGG-3'	186 bp
	R	5' -TGTTCTCCCGCTTGAAGGTC-3'	
mouse Ttn N2B	F	5' -ACAGTGGGAAAGCAAAGACATC-3'	100 pb
	R	5' -AGGTGGCCCAGAGCTACTTC-3'	
mouse Ttn N2BA	F	5' -GAGACATTGCTCCGCTTTTC-3'	191 bp
	R	5' -GATCTCCAAAGAGGCTGTC-3'	
mouse Ccl5	F	5' - CCTTCGAGTGACAAACACGA -3'	185 bp
	R	5' - CCCTCACCATCATCCTCACT-3'	
mouse Col1a1	F	5' -CAACCTCAAGAAGGCCCTGC-3'	194 bp
	R	5' -TGTCCAAGGGAGCCACATCG-3'	
mouse Col3a1	F	5' -AGCACGAGGTCTTGCTGGAC-3'	163 bp
	R	5' -ACCAGCTGTACCAGGCTGAC-3'	

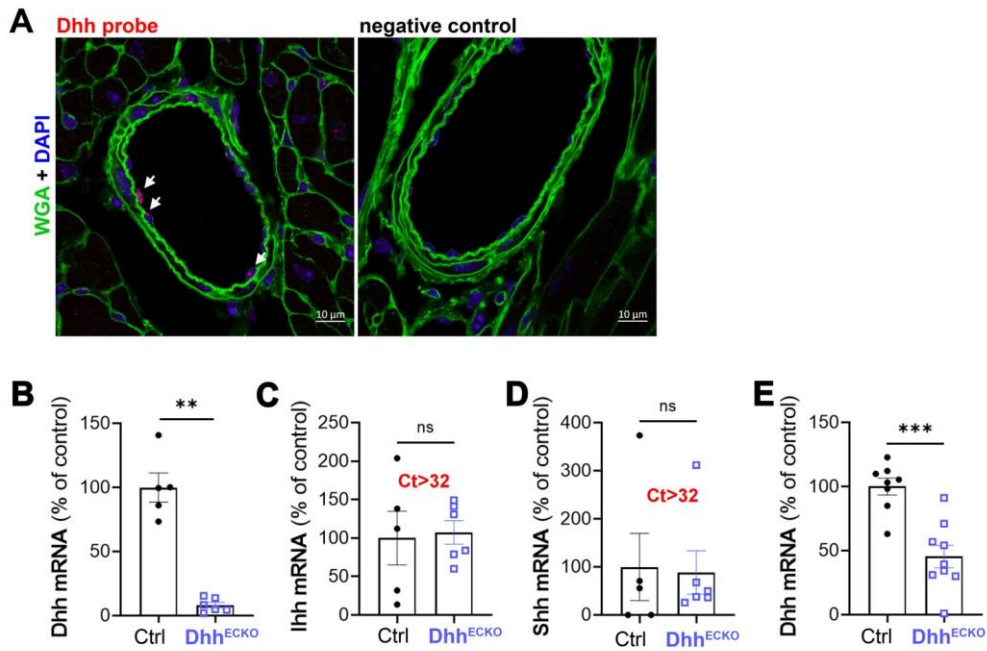
Supplemental Table 3: List of primers used for reverse transcription (RT) quantitative polymer chain reaction (qPCR). F: forward; R: reverse

FeatureID	Control				Dhh ^{ECKO}			logFC	PValue	FDR	Status
	3379	3380	3381	3383	3312	3320	3321				
Pls1	0.05	0.09	0.11	0.09	0.27	0.59	2.41	3.58	3.27E-06	5.37E-04	Up in DhhCEKO
Tubb1	0.36	0.13	0.57	0.71	0.38	3.55	11.29	3.48	2.01E-06	3.48E-04	Up in DhhCEKO
Gp9	0.56	0.26	0.68	0.71	4.86	3.30	10.16	3.47	2.30E-15	3.73E-12	Up in DhhCEKO
Mpl	0.25	0.00	0.17	0.22	0.38	1.08	3.88	3.41	4.87E-06	7.26E-04	Up in DhhCEKO
Clec1b	0.51	0.21	0.57	0.66	1.94	2.56	8.83	3.16	1.32E-09	5.72E-07	Up in DhhCEKO
Ciart	2.14	6.18	1.70	1.85	44.49	12.91	16.34	3.10	5.29E-11	3.44E-08	Up in DhhCEKO
Mpig6b	0.31	0.21	0.17	0.93	1.78	2.81	6.09	3.08	1.67E-08	5.85E-06	Up in DhhCEKO
F5	0.41	0.43	0.34	0.31	1.73	1.82	5.89	3.05	1.11E-09	4.96E-07	Up in DhhCEKO
Tmem40	0.20	0.09	0.11	0.09	0.49	1.08	1.52	3.02	1.07E-06	1.96E-04	Up in DhhCEKO
Draxin	0.20	0.00	0.11	0.26	0.54	0.74	2.36	3.00	1.58E-05	1.87E-03	Up in DhhCEKO
Ppbp	3.56	1.66	4.48	4.63	10.37	19.17	49.33	2.85	3.63E-12	3.14E-09	Up in DhhCEKO
Trem12	0.41	0.30	0.79	0.40	1.19	2.81	6.33	2.85	4.53E-08	1.28E-05	Up in DhhCEKO
Gp5	0.41	0.13	0.51	0.62	1.78	2.32	4.27	2.74	1.08E-08	3.90E-06	Up in DhhCEKO
Nrgn	6.52	2.90	6.58	9.83	23.81	27.30	79.22	2.73	1.40E-12	1.51E-09	Up in DhhCEKO
Trem11	0.46	0.43	0.57	0.79	2.16	3.20	5.55	2.67	1.20E-10	6.80E-08	Up in DhhCEKO
Dbp	16.39	61.14	14.70	32.92	302.15	127.21	115.25	2.59	2.81E-09	1.11E-06	Up in DhhCEKO
Itga2b	3.05	1.53	3.52	5.33	9.29	14.59	36.76	2.57	2.61E-10	1.36E-07	Up in DhhCEKO
Fam46b	2.09	6.39	0.45	1.32	17.49	5.72	21.79	2.56	1.37E-05	1.64E-03	Up in DhhCEKO
Gp1ba	0.41	0.34	0.23	0.18	0.97	0.99	3.04	2.50	5.60E-06	8.08E-04	Up in DhhCEKO
BB123696	0.15	0.21	0.11	0.26	0.76	1.04	1.42	2.46	5.32E-06	7.85E-04	Up in DhhCEKO
Apol11b	0.87	1.11	0.45	0.31	5.99	1.08	2.99	2.33	2.66E-05	2.76E-03	Up in DhhCEKO
Gbp10	1.07	1.36	0.68	0.62	9.61	1.38	2.31	2.31	4.82E-05	4.38E-03	Up in DhhCEKO
Apol9b	1.93	3.02	0.40	0.35	12.63	2.61	4.47	2.25	0.00040068	2.46E-02	Up in DhhCEKO
P2rx1	0.36	0.60	0.51	0.35	1.13	1.28	4.17	2.25	1.18E-05	1.46E-03	Up in DhhCEKO
Per2	2.70	10.44	2.44	7.36	29.21	20.45	31.56	2.25	6.27E-09	2.40E-06	Up in DhhCEKO
Rgs18	0.31	0.09	0.91	0.66	0.92	1.18	4.66	2.19	0.0006198	3.46E-02	Up in DhhCEKO
Adh1	11.25	5.84	7.26	6.70	18.30	27.85	55.61	2.11	2.11E-12	2.11E-09	Up in DhhCEKO
Gp1bb	1.79	0.52	2.09	1.20	4.75	3.99	7.58	1.98	4.30E-07	9.01E-05	Up in DhhCEKO
Slc4a1	1.37	3.11	1.65	0.79	13.82	1.82	3.58	1.96	0.00057689	3.26E-02	Up in DhhCEKO
Zbtb16	22.30	21.34	18.16	50.80	118.14	86.05	121.53	1.96	1.58E-11	1.14E-08	Up in DhhCEKO
Cd7	0.51	0.38	0.34	0.26	1.84	0.74	1.62	1.91	0.00013135	1.02E-02	Up in DhhCEKO
Nfe2	0.31	0.72	0.40	0.48	1.13	1.04	3.04	1.83	0.00026231	1.75E-02	Up in DhhCEKO
Itgb3	3.21	2.56	3.41	4.05	6.10	8.77	19.83	1.79	3.28E-08	1.02E-05	Up in DhhCEKO
Prkar2b	0.41	1.07	1.59	0.97	2.21	2.71	5.50	1.79	2.37E-05	2.51E-03	Up in DhhCEKO
Per3	6.57	13.46	7.78	9.65	28.18	29.92	36.81	1.76	4.44E-16	9.62E-13	Up in DhhCEKO
Mt2	27.34	23.35	12.88	14.32	57.45	52.74	73.92	1.66	9.24E-13	1.09E-09	Up in DhhCEKO
Fam107a	4.28	7.97	3.12	4.76	9.56	9.46	28.96	1.65	5.99E-06	8.45E-04	Up in DhhCEKO
Slamf1	0.46	0.38	0.51	0.35	0.76	1.18	1.87	1.57	0.00085291	4.54E-02	Up in DhhCEKO
Ccl5	1.73	1.62	1.42	1.32	7.07	2.37	3.44	1.53	9.73E-05	8.00E-03	Up in DhhCEKO
Gm4951	4.33	3.71	1.99	1.81	11.18	4.24	9.28	1.50	4.96E-05	4.45E-03	Up in DhhCEKO
Inmt	5.19	2.90	7.38	3.75	14.90	9.51	15.46	1.50	1.94E-07	4.43E-05	Up in DhhCEKO
Tef	71.74	86.79	73.49	72.70	242.86	174.82	191.72	1.44	8.50E-18	2.76E-14	Up in DhhCEKO
Alad	60.43	55.98	55.11	51.86	171.00	145.35	124.92	1.42	6.49E-19	2.81E-15	Up in DhhCEKO
Hbb-b2	22.94	27.08	18.70	17.96	96.78	28.56	40.03	1.40	1.81E-05	2.04E-03	Up in DhhCEKO
Hbb-bt	22.94	27.08	18.70	17.96	96.78	28.56	40.03	1.40	1.81E-05	2.04E-03	Up in DhhCEKO
Timp4	32.63	28.80	22.59	50.54	59.72	78.86	129.87	1.40	5.99E-08	1.66E-05	Up in DhhCEKO
Hba-a2	43.17	44.27	35.24	35.47	192.76	51.36	52.96	1.39	0.00014964	1.10E-02	Up in DhhCEKO
Hbb-b1	318.24	232.77	238.40	266.46	1024.14	403.26	586.84	1.39	1.65E-07	3.96E-05	Up in DhhCEKO
Rab4a	4.79	4.05	3.63	4.45	11.72	14.49	6.48	1.38	3.59E-07	7.65E-05	Up in DhhCEKO
Slc4a8	1.78	2.68	1.19	1.85	3.24	3.55	7.85	1.36	0.00018267	1.29E-02	Up in DhhCEKO
Fmo2	20.82	12.01	17.48	13.88	21.38	42.14	60.76	1.36	1.69E-07	3.99E-05	Up in DhhCEKO
Hba-a1	119.85	120.27	85.07	93.59	467.80	127.41	170.96	1.35	8.77E-05	7.31E-03	Up in DhhCEKO
Xdh	79.12	45.80	61.80	71.38	84.99	167.82	241.93	1.34	1.35E-07	3.38E-05	Up in DhhCEKO
Tcap	1067.43	1557.46	937.72	1328.95	4180.70	2230.77	2564.05	1.33	2.79E-08	9.07E-06	Up in DhhCEKO
Tcf23	1.53	1.66	1.59	2.29	2.32	4.88	5.94	1.29	0.0001332	1.02E-02	Up in DhhCEKO
Mt1	184.40	169.44	112.82	121.04	454.25	257.62	326.01	1.27	3.10E-08	9.82E-06	Up in DhhCEKO
Sult1a1	32.74	28.63	26.67	31.73	48.00	63.73	104.50	1.26	2.97E-10	1.48E-07	Up in DhhCEKO
Mfsd2b	2.04	1.11	1.70	1.85	2.65	3.35	5.94	1.25	0.0003645	2.28E-02	Up in DhhCEKO
Cys1	2.44	2.13	3.12	2.16	7.29	4.83	4.66	1.22	3.80E-05	3.65E-03	Up in DhhCEKO
Plek	3.72	6.65	6.98	4.89	5.02	10.35	23.27	1.20	0.00089013	4.65E-02	Up in DhhCEKO
Usp18	10.08	14.49	8.17	5.02	29.32	10.15	23.22	1.18	0.00066722	3.60E-02	Up in DhhCEKO
Unc5a	1.12	1.41	2.38	2.07	4.00	4.24	3.48	1.18	0.00028149	1.83E-02	Up in DhhCEKO
Tspan4	21.43	30.89	25.37	22.56	80.02	41.50	43.59	1.18	5.44E-07	1.10E-04	Up in DhhCEKO
Alas2	26.22	27.82	22.98	21.94	76.46	39.92	46.92	1.17	8.67E-08	2.35E-05	Up in DhhCEKO
Hdhd3	2.80	4.90	3.75	3.97	11.07	7.49	7.07	1.17	1.35E-05	1.64E-03	Up in DhhCEKO
Alox12	5.19	5.88	9.19	6.26	9.88	11.53	22.77	1.15	1.78E-05	2.04E-03	Up in DhhCEKO
Ctla2a	26.12	40.94	32.52	34.06	44.81	58.45	121.04	1.15	3.37E-06	5.47E-04	Up in DhhCEKO
Al464131	13.80	16.23	14.07	15.99	29.26	35.78	34.51	1.15	3.11E-14	4.48E-11	Up in DhhCEKO

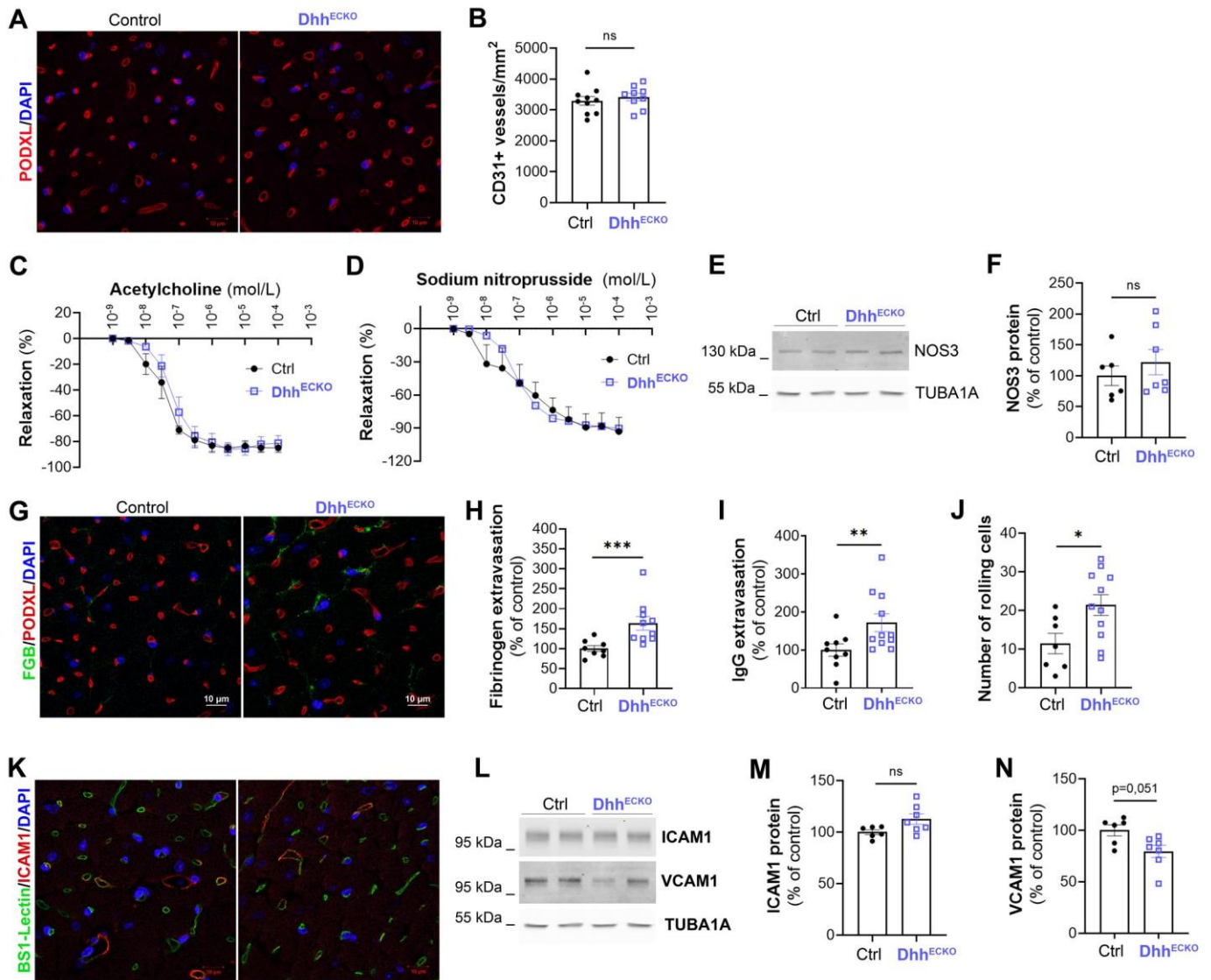
Rheb1	1.58	2.68	2.21	1.63	5.45	2.96	4.86	1.15	0.0004869	2.88E-02	Up in DhhCEKO
Spock2	2.49	2.94	5.05	3.57	6.48	8.13	8.30	1.14	1.13E-05	1.42E-03	Up in DhhCEKO
Cnksr1	11.71	12.91	10.27	7.45	26.46	20.95	20.71	1.12	9.62E-08	2.50E-05	Up in DhhCEKO
Timp3	122.55	165.69	132.97	166.47	237.20	307.20	413.62	1.12	3.80E-10	1.83E-07	Up in DhhCEKO
Arrdc2	21.54	21.47	8.46	12.12	27.91	23.56	51.29	1.11	0.00027326	1.79E-02	Up in DhhCEKO
Rhobtb1	74.23	82.44	51.19	81.74	150.54	154.71	155.20	1.09	2.47E-10	1.34E-07	Up in DhhCEKO
Aldh1l1	3.67	2.73	3.58	2.16	4.97	7.69	6.53	1.09	4.90E-05	4.42E-03	Up in DhhCEKO
Aldob	6.16	3.37	5.73	4.63	9.88	13.50	7.95	1.09	2.27E-05	2.44E-03	Up in DhhCEKO
Pgm2l1	9.52	8.99	7.83	9.08	15.77	16.51	23.27	1.07	1.71E-08	5.85E-06	Up in DhhCEKO
Acta1	300.28	335.09	226.21	156.91	539.56	684.59	355.02	1.07	1.88E-05	2.11E-03	Up in DhhCEKO
Agap2	6.01	9.50	6.58	8.02	14.20	12.77	19.68	1.05	1.31E-06	2.36E-04	Up in DhhCEKO
Oas2	17.11	15.04	15.32	12.73	15.77	27.26	50.90	1.04	7.92E-05	6.81E-03	Up in DhhCEKO
Glul	342.74	307.86	315.37	303.82	548.42	715.89	667.14	1.03	6.71E-13	8.71E-10	Up in DhhCEKO
Tusc5	2.70	2.77	2.61	4.41	4.81	6.65	7.66	1.02	0.00019932	1.39E-02	Up in DhhCEKO
Ephx1	35.08	41.80	39.05	35.21	79.53	66.24	79.66	1.01	4.48E-12	3.64E-09	Up in DhhCEKO
Usp2	189.90	230.11	152.32	176.83	527.09	281.38	293.32	1.01	1.64E-05	1.91E-03	Up in DhhCEKO
Fam110b	15.83	13.04	18.16	13.44	6.43	9.17	6.87	-1.00	7.48E-07	1.41E-04	Down in DhhCEKO
Ccl2	4.43	9.67	5.85	6.39	2.32	3.55	3.98	-1.00	0.00074279	3.99E-02	Down in DhhCEKO
Ankrd23	800.29	913.57	895.32	814.91	329.90	538.41	391.49	-1.02	7.40E-10	3.43E-07	Down in DhhCEKO
Lingo3	30.80	29.31	29.00	29.26	11.61	17.15	14.09	-1.04	9.92E-11	5.86E-08	Down in DhhCEKO
Adra1b	65.78	57.47	60.95	69.05	27.64	36.18	27.34	-1.05	1.93E-11	1.32E-08	Down in DhhCEKO
Armcx4	15.32	24.50	20.94	21.94	9.39	8.92	10.80	-1.08	4.01E-08	1.16E-05	Down in DhhCEKO
Ldlr	14.66	16.57	23.50	9.12	4.70	9.22	8.54	-1.09	0.00011271	8.93E-03	Down in DhhCEKO
Auts2	29.99	27.82	32.29	20.67	7.72	17.15	13.45	-1.12	6.16E-07	1.21E-04	Down in DhhCEKO
Olfml2b	12.78	19.81	10.39	14.81	7.51	4.39	7.07	-1.17	8.43E-06	1.13E-03	Down in DhhCEKO
Klhdc8a	56.05	66.04	62.14	54.59	20.68	28.83	28.03	-1.20	1.28E-15	2.38E-12	Down in DhhCEKO
Tmem171	13.64	7.33	16.34	5.82	5.02	5.32	3.19	-1.23	0.00027709	1.81E-02	Down in DhhCEKO
B3galt2	4.94	5.67	7.89	5.60	1.03	4.49	1.57	-1.35	0.00047674	2.85E-02	Down in DhhCEKO
Itgb6	26.07	29.01	24.40	23.49	7.13	14.15	8.49	-1.37	8.83E-11	5.46E-08	Down in DhhCEKO
Nfil3	39.92	21.05	51.25	33.05	8.80	18.09	14.82	-1.38	1.83E-07	4.25E-05	Down in DhhCEKO
Kcna4	2.04	3.37	3.23	2.73	1.19	0.74	1.28	-1.39	0.00011553	9.10E-03	Down in DhhCEKO
Slc41a3	166.08	138.51	187.79	161.45	54.05	63.19	61.21	-1.45	8.31E-22	1.08E-17	Down in DhhCEKO
Pdzrn4	5.96	5.33	7.26	2.73	1.89	1.38	2.41	-1.47	3.19E-05	3.24E-03	Down in DhhCEKO
Fam222a	11.30	7.33	9.59	5.99	2.48	3.20	2.16	-1.69	2.68E-09	1.09E-06	Down in DhhCEKO
Tpsb2	1.12	2.77	2.44	3.17	0.54	0.54	1.08	-1.71	0.00015506	1.13E-02	Down in DhhCEKO
Adam19	90.06	60.41	105.79	44.90	12.69	32.38	22.92	-1.73	2.58E-09	1.08E-06	Down in DhhCEKO
Tfrc	65.68	138.98	120.26	111.88	31.42	30.80	32.15	-1.78	3.02E-17	7.85E-14	Down in DhhCEKO
Mum1l1	1.53	1.83	2.10	2.91	0.43	0.59	0.59	-1.94	5.83E-06	8.32E-04	Down in DhhCEKO
Spon2	15.12	19.26	19.86	14.01	3.24	4.73	4.61	-2.01	6.35E-21	4.12E-17	Down in DhhCEKO
Arntl	23.83	11.97	29.17	18.90	0.92	7.79	6.33	-2.09	4.81E-06	7.26E-04	Down in DhhCEKO
Npas2	10.69	8.95	12.49	6.79	0.97	2.86	2.50	-2.20	2.36E-12	2.19E-09	Down in DhhCEKO
Adamts4	4.94	12.44	8.97	3.75	0.97	2.17	1.62	-2.23	3.91E-08	1.15E-05	Down in DhhCEKO
Lgals6	0.00	2.13	6.94	1.00	0.00	0.00	0.00	-8.65	1.58E-07	3.86E-05	Down in DhhCEKO

Supplemental Table 4: List of genes modulated by at least 2 fold in the heart of *Dhh*^{ECKO} mice

SUPPLEMENTAL FIGURES AND FIGURE LEGENDS

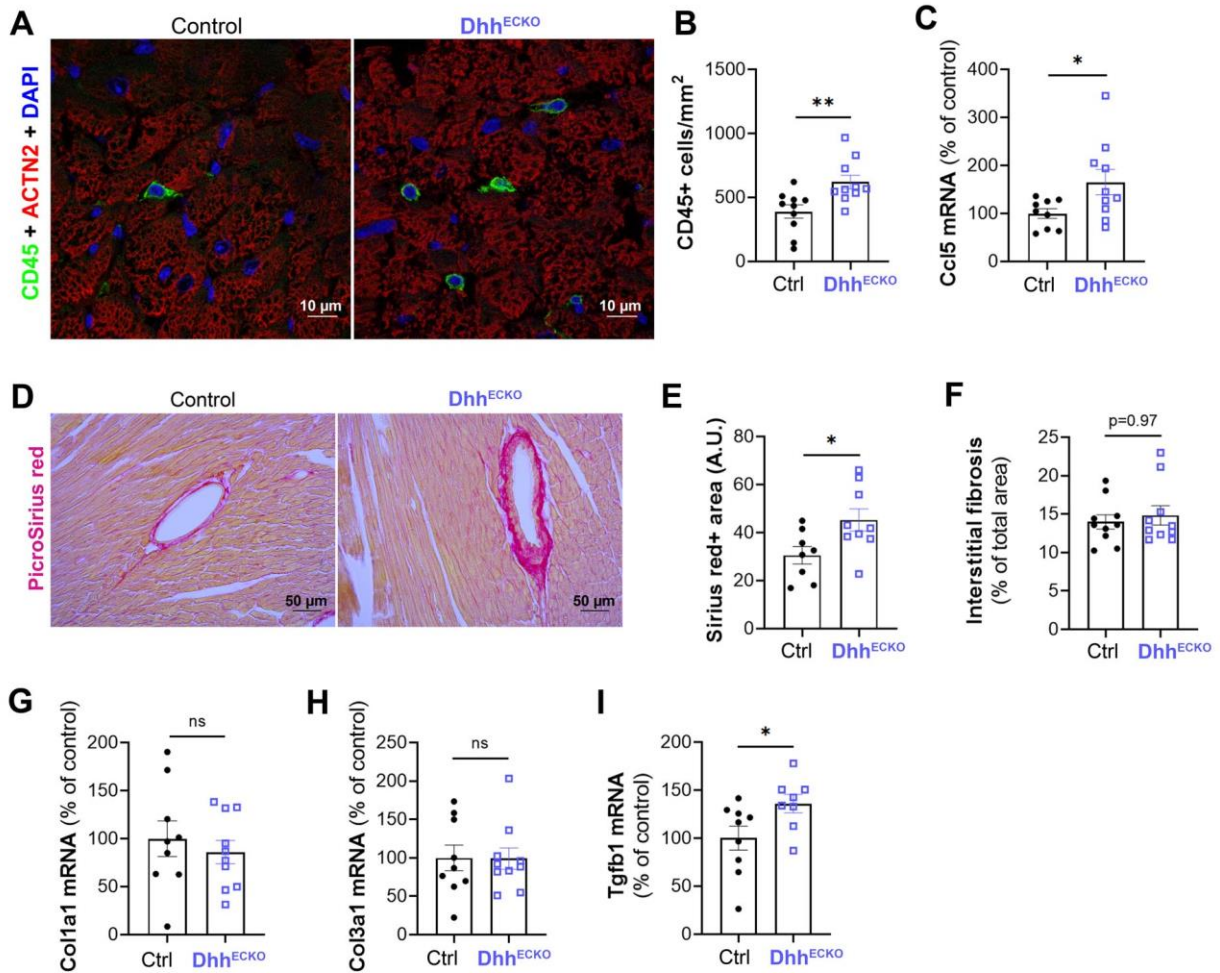


Supplemental Figure 1: *Dhh*^{ECKO} mice display significantly downregulated *Dhh* mRNA expression in the heart. (A) Heart sections from C57BL/6 WT mice were incubated with *Dhh* or negative control RNA probes. Sections were counterstained with AlexaFluor 488-labelled WGA and DAPI in blue, to delimitate cells. (B-E) *Cdh5-Cre/ERT2; Dhh*^{Flox/Flox} (*Dhh*^{ECKO}) mice and their control littermate (*Dhh*^{Flox/Flox}) were administered with tamoxifen at 8 weeks of age and sacrificed at 12 weeks of age. (B-D) Cardiac endothelial cells were enriched via magnetic cell sorting. (B) *Dhh*, (C) *Ihh* and (D) *Shh* mRNA expression were quantified by RT-qPCR and normalized to *Actb* mRNA (n=6 and 5 heart per group). (E) *Dhh* mRNA expression was quantified by RT-qPCR in total heart extract and normalized to *Actb* mRNA (n=8 mice per group). **: p<0.01; ***: p<0.001; ns: not significant; Mann-Whitney test.

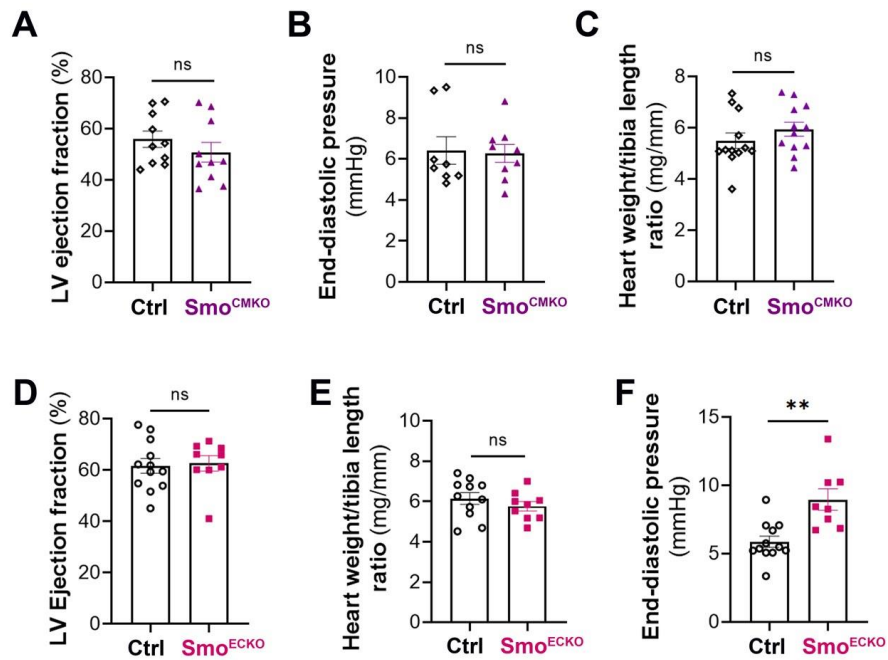


Supplemental Figure 2: *Dhh^{ECKO}* mice display cardiac small vessel disease. (A-D, G-L) *Cdh5-Cre/ERT2; Dhh^{Flox/Flox} (Dhh^{ECKO})* mice and their control littermate (*Dhh^{Flox/Flox}*) were administered with tamoxifen at 8 weeks of age and sacrificed at 12 weeks of age. (A) Heart cross sections were immunostained with anti-Podocalyxin Like (PODXL) antibodies to identify ECs. (B) The number of PODXL + vessels per mm² was quantified using image J software (n=8 mice per group). (C-D) Femoral arteries were harvested. The cumulative concentration-relaxation curve to (C) acetylcholine and (D) nitroprusside sodium are shown. The response is expressed as the percentage of decrease of phenylephrine-induced pre-contraction. Values were normalized to an initial 80 mM KCl-induced contraction level. (E-F, L-N) Cardiac ECs were isolated from *Cdh5-Cre/ERT2; Dhh^{Flox/Flox}* and *Dhh^{Flox/Flox}* pups and treated with 4-Hydroxytamoxifen. (E) NOS3 protein level was evaluated by western blot analyses and (F) quantified using image J software (n=7 and 6). (G-H) Heart cross sections were co-immunostained with anti-FGB and anti-PODXL antibodies to identify capillaries. (G) Representative image are shown. (H) FGB extravasation was quantified using image J software (n=8 mice per group). (I) Heart cross sections were co-immunostained with anti-IgG and anti-PODXL antibodies to identify capillaries. (H) IgG extravasation was quantified using image J software (n=8 mice per group). (J) Prior sacrifice, mice were administered with

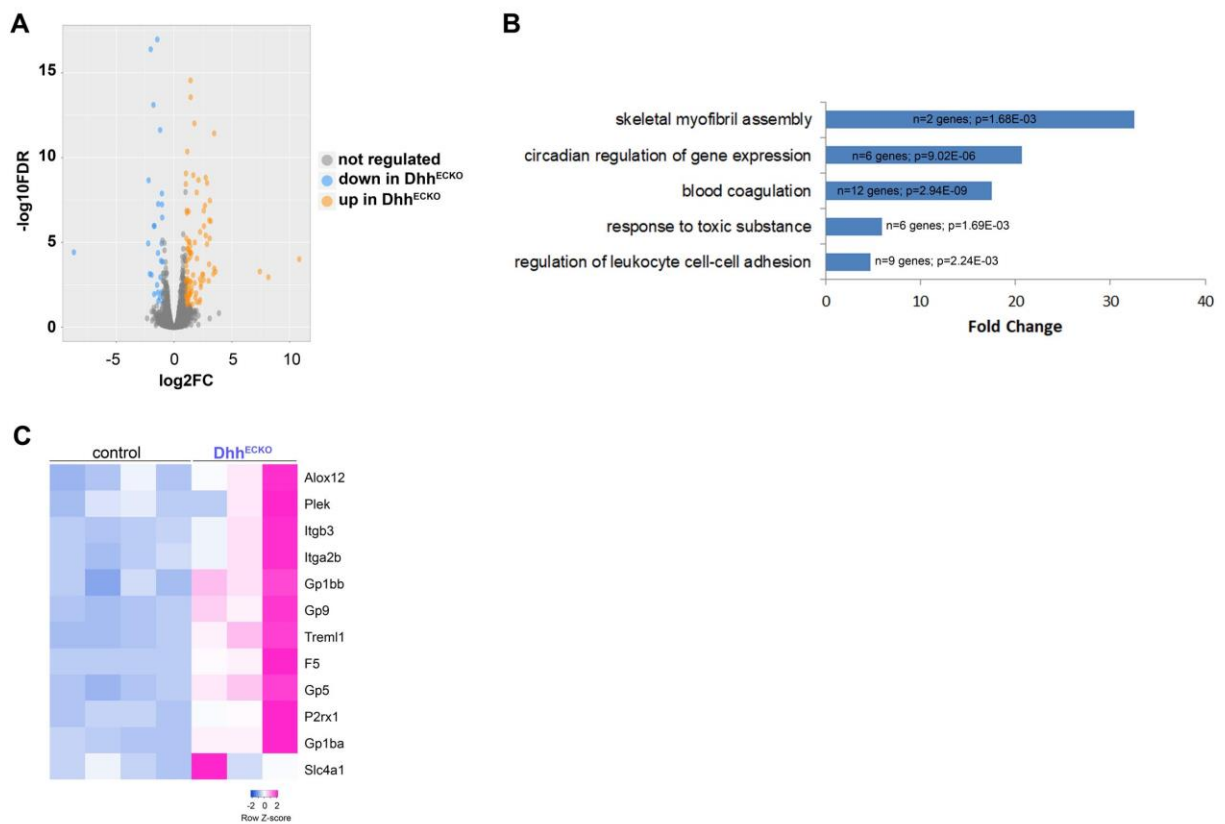
rhodamine 6G to label Leucocytes. Leucocyte rolling in the mesenteric vein was assessed via live imaging. **(K)** Heart cross sections were co-stained with anti-ICAM1 antibodies and FITC labelled BS1 lectin to identify capillaries. **(L)** ICAM1 and VCAM1 protein levels were evaluated by western blot analyses and **(M-N)** quantified using image J software (n=6 and 7). *: $p \leq 0.05$; **: $p \leq 0.01$; ***: $p \leq 0.001$; ns: not significant; Mann-Whitney test.



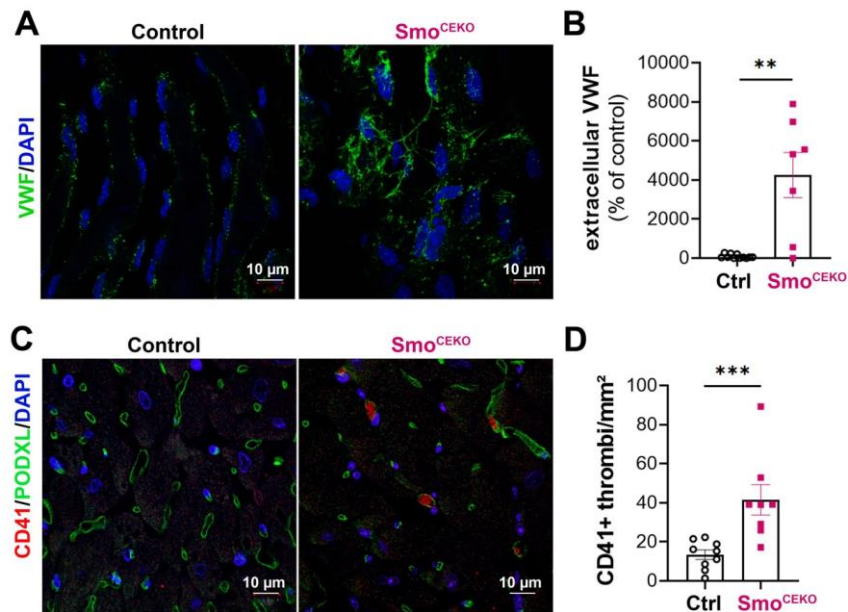
Supplemental figure 3: Dhh^{ECKO} mice display cardiac inflammation and perivascular fibrosis. Cdh5-Cre/ERT2; *Dhh*^{Flox/Flox} (*Dhh*^{ECKO}) mice and their control littermate (*Dhh*^{Flox/Flox}) were administered with tamoxifen at 8 weeks of age and sacrificed at 12 weeks of age. **(A-B)** Heart cross sections were co-immunostained with anti-CD45 antibodies to identify leucocytes and anti-ACTN2 antibodies to identify cardiomyocytes. **(A)** Representative image are shown. **(B)** The number of CD45+ leucocytes per mm² was quantified using Image J software (n=10 mice per group). **(C)** *Ccl5* mRNA expression was quantified by RT-qPCR in total heart extract and normalized to *Actb* mRNA (n=9 mice per group). **(D-F)** Heart cross sections were stained with Sirius red to identify fibrosis. **(D)** Representative image are shown. **(E)** Perivascular fibrosis was quantified using Image J software (n=8 mice per group). **(F)** Interstitial fibrosis was quantified using Image J software (n=10). **(G)** *Col1a1*, **(H)** *Col3a1* and **(I)** *Tgfb1* mRNA expression was quantified by RT-qPCR in total heart extract and normalized to *Actb* mRNA (n=9 mice per group). *: p \leq 0.05; **: p \leq 0.01; ns: not significant; Mann-Whitney test.



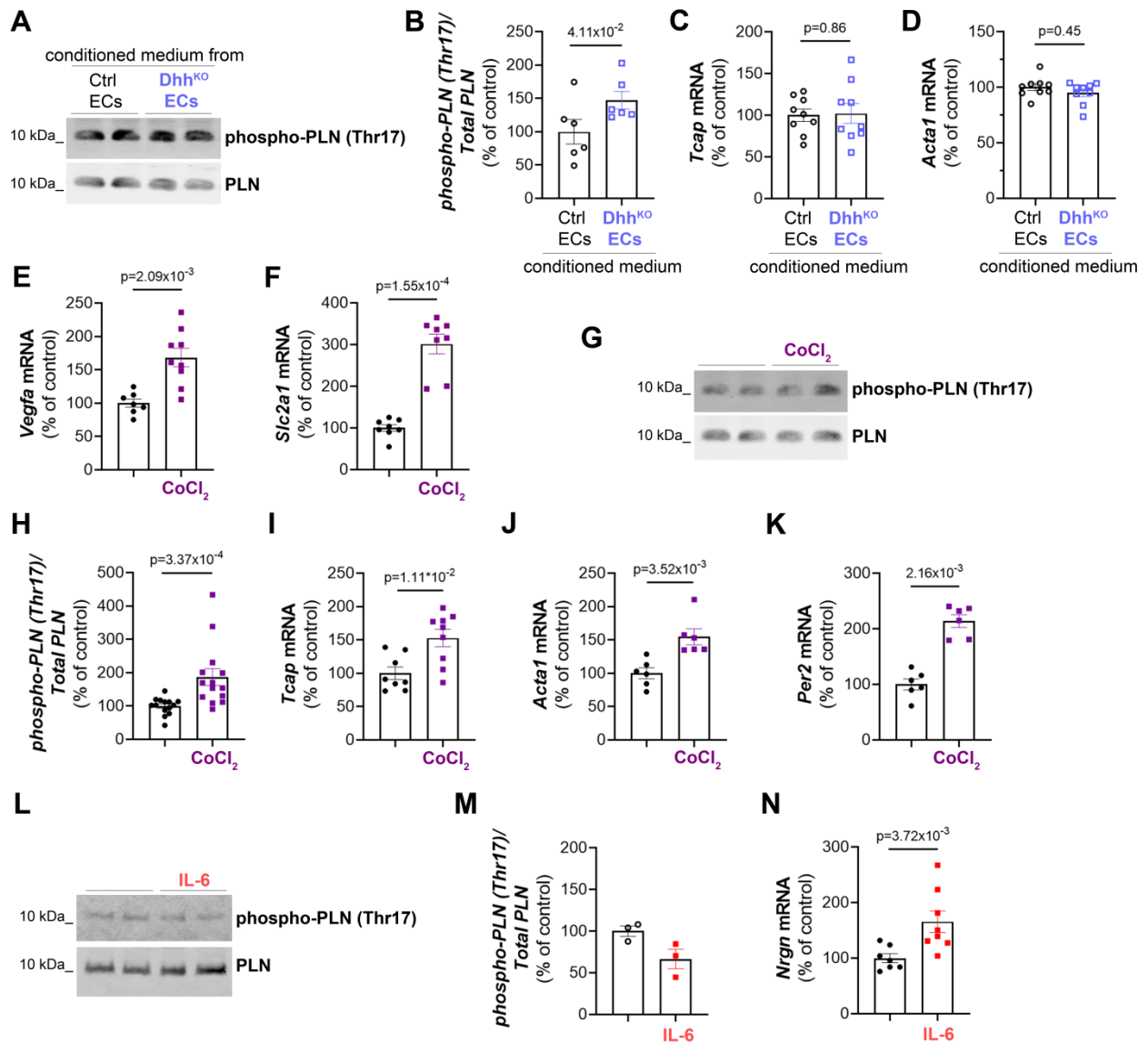
Supplemental Figure 4: *Smo^{ECKO}* but not *Smo^{CMKO}* mice display diastolic dysfunction. (A-C) Myh6-Cre/ESR1; *Smo^{Flox/Flox}* (*Smo^{CMKO}*) mice and their control littermate (*Smo^{Flox/Flox}*) were administered with tamoxifen at 8 weeks of age and sacrificed at 12 weeks of age. (A) Ejection fraction was assessed via echocardiography (n= 10 mice per group). (B) LV end diastolic pressure (EDP) was measured by left ventricular catheterization (n=10 mice per group). (C) The heart weight over tibia length ratio was calculated (n=10 mice per group). (D-F) Cdh5-Cre/ERT2; *Smo^{Flox/Flox}* (*Smo^{ECKO}*) mice and their control littermate (*Smo^{Flox/Flox}*) were administered with tamoxifen at 8 weeks of age and sacrificed at 12 weeks of age. (D) Ejection fraction was assessed via echocardiography (n= 10 mice per group). (E) LV end diastolic pressure (EDP) was measured by left ventricular catheterization (n=10 mice per group). (F) The heart weight over tibia length ratio was calculated (n=10 mice per group). **: p<0.01; ns: not significant; Mann-Whitney test.



Supplemental Figure 5: Platelet markers are increased in the heart of Dhh^{ECKO} mice. $Cdh5-Cre/ERT2$; $Dhh^{Flx/Flx}$ (Dhh^{ECKO}) mice and their control littermate ($Dhh^{Flx/Flx}$) were administered with tamoxifen at 8 weeks of age and sacrificed at 12 weeks of age. RNA sequencing analysis was performed from total heart extracts. **(A)** The volcano plot is shown **(B)** Enrichment analysis of biological processes was performed. **(C)** Heatmap shows the list of genes involved in the blood coagulation process of which the expression is different in both groups. (n=3 and 4 mice/group).



Supplemental Figure 6: *Smo*^{ECKO} mice have a pro-thrombotic endothelium. *Cdh5-Cre/ERT2; Smo*^{Flox/Flox} (*Smo*^{ECKO}) mice and their control littermate (*Smo*^{Flox/Flox}) were administered with tamoxifen at 8 weeks of age and sacrificed at 12 weeks of age. **(A-B)** Not permeabilized en face aortas were immunostained with anti-VWF antibodies. **(A)** Representative images are shown. **(B)** Extracellular VWF was quantified using image J software (n=7 mice per group). **(C-D)** Heart cross sections were co-immunostained with anti-CD41 antibodies to identify platelets and anti-PODXL antibodies to identify capillaries. **(C)** Representative images are shown. **(D)** The number of CD41+ thrombi per mm² was quantified using image J software (n=9 mice per group). **: p≤0.01; ***: p≤0.001; Mann-Whitney test.



Supplemental Figure 7: (A-D) Primary cultured mouse ventricular cardiomyocytes were treated with culture medium from mouse Dhh^{KO} or control ECs (n=9 cell culture wells per conditions). **(A)** PLN phosphorylation on threonine 17 was assessed by western blot analysis and **(B)** quantified using image J software. **(C)** *Tcap* and **(D)** *Acta1* mRNA expression was quantified via RT-qPCR and normalized to *Actb* mRNA expression. **(E-K)** Primary cultured mouse ventricular cardiomyocytes were treated or not with 150 μM CoCl₂ for 5 hours (n=9 cell culture wells per conditions). **(E)** *Vegfa* and **(F)** *Slc2a1* mRNA expression was quantified via RT-qPCR and normalized to *Actb* mRNA expression. **(G)** PLN phosphorylation on threonine 17 was assessed by western blot analysis and **(H)** quantified using image J software. **(I)** *Tcap*, **(J)** *Acta1* and **(K)** *Per2* mRNA expression was quantified via RT-qPCR and normalized to *Actb* mRNA expression. **(L-N)** Primary cultured mouse ventricular cardiomyocytes were treated or not with 10 ng/mL IL-6 recombinant protein for 5 hours **(L)** PLN phosphorylation on threonine 17 was assessed by western blot analysis and **(M)** quantified using image J software (n=3 cell culture wells per conditions). **(N)** *Nrgn* mRNA expression was quantified via RT-qPCR and normalized to *Actb* mRNA expression (n=9 cell culture wells per conditions). Mann-Whitney tests

V. DISCUSSION

Ces travaux mettent en évidence le rôle causal de la dysfonction endothéliale microvasculaire dans la dysfonction diastolique par l'intermédiaire d'un mécanisme d'hypoxie induite par une microthrombose coronaire altérant le phénotype des cardiomyocytes. Nous mettons en évidence que ce processus altérant la perfusion d'environ 10 % des capillaires a lieu en condition de DT2 ($Lepr^{db/db}$). Moléculairement, nous démontrons qu'en cas de DT2, l'augmentation de l'expression d'Hhip1 altère la voie de signalisation endothéliale autocrine médiée par DHH en agissant comme un récepteur leurre. Le défaut de cette signalisation médiée par DHH va ensuite favoriser le développement de microthrombi qui par un mécanisme dépendant de l'hypoxie va modifier le phénotype des cardiomyocytes et contribuer à la dysfonction diastolique. L'hypoxie va notamment altérer leur relaxation et modifier l'expression des composants intervenants dans formation des myofilaments (Acta1, Mhy7). Nous mettons en évidence qu'une thérapie antiagrégante améliore la dysfonction diastolique induite par un DT2, et que cette amélioration est associée à une diminution des marqueurs d'hypoxie. L'ensemble de ces résultats propose un nouveau mécanisme physiopathologique contribuant au développement de l'ICFep et pourrait permettre à l'avenir d'établir de nouveaux essais cliniques ciblant la thrombose chez ces patients.

Notre équipe s'intéresse à la voie de signalisation Hh et plus particulièrement à la signalisation DHH dans les CE. Nous avons démontré que ce ligand joue un rôle essentiel pour leur intégrité et celle de leurs jonctions (Caradu, Couffinhal, et al. 2018; Hollier et al. 2021).

À partir d'analyses transcriptomiques précédemment publiées (Guimbal et al. 2021), nous avons identifié une augmentation de l'expression génique d'HHIPL1 dans un modèle murin ($Lepr^{db/db}$) récapitulant 3 des principaux facteurs de risques de l'ICFep (sexe féminin, obésité et DT2). De manière intéressante, ce gène a déjà été associé dans des études GWAS à des pathologies cardiovasculaires chez l'homme (Rodríguez-Pérez et al. 2018; Aravani et al. 2019) et comme potentiel modulateur de la voie de signalisation Hh dans les cellules NIH/3T3 (Aravani et al. 2019). Dans la littérature, HHIPL1 est décrit comme étant un paralogue de l'inhibiteur de signalisation Hedgehog : HHIP (Katoh and Katoh 2006). HHIP interagit avec chacun des trois ligands Hh (IHH, SHH, DHH) et inhibe la voie de signalisation (P. T. Chuang and McMahon 1999; Kwong, Bijlsma, and Roelink 2014; Holtz et al. 2015).

Contrairement aux travaux de Aravani et collaborateurs proposant Hhip1 comme un potentialisateur de l'activité du ligand SHH, nos analyses lui suggèrent une fonction de récepteur leurre au ligand DHH. Cette différence conceptuelle de fonction peut s'expliquer par les effets opposés des ligands SHH et DHH endothéliaux (Hollier et al. 2021) et l'attribution des effets d'HHIPL1 majoritairement aux cellules musculaires dans leur étude.

À partir de ces observations, nous avons développé le modèle murin Dhh^{EKO} dans le but d'étudier les effets d'une altération de la voie de signalisation endothéliale seule sur la fonction diastolique en

l'absence d'un diabète et d'une dyslipidémie. Dans la littérature, ce ligand est démontré comme étant essentiel pour l'intégrité des CE (Caradu, Couffignal, et al. 2018) et de leurs jonctions (Caradu, Guy, et al. 2018; Hollier et al. 2021b). Nos résultats concordent avec ce rôle de DHH puisque les souris Dhh^{ECKO} développent une dysfonction endothéliale microvasculaire (perméabilité, fibrose périvasculaire, infiltration leucocytaire) avec des caractéristiques similaires à celles observées chez les patients atteints d'ICFEP (Fischer et al. 2022; Mohammed et al. 2015; Franssen et al. 2016b).

En revanche, contrairement à son rôle suggéré, l'absence de DHH n'a pas permis de moduler le niveau des facteurs d'adhésion (ICAM-1, VCAM-1, E-Selectine). Ces facteurs d'adhésion, bien que modulés dans l'ICFEP, n'interviennent pas dans notre modèle murin (Franssen et al. 2016b). Nous expliquons la présence d'un phénotype pro-adhésif des CE des souris Dhh^{ECKO} comme étant la conséquence indirecte de l'augmentation de l'expression de vWF et de CCL5. En effet, il a été démontré qu'une augmentation de vWF peut favoriser le rolling, l'adhésion et l'extravasation des leucocytes (Pendou et al. 2006; Mojzisch and Brehm 2021; Chauhan et al. 2008).

La nouveauté de notre travail réside dans le fait que la perturbation de la communication entre CE vasculaires et cardiomyocytes dans ce modèle Dhh^{ECKO} est associée à la présence de thrombi dans environ 10 % des capillaires provoquant une hypoxie locale myocardique. La présence de l'hypoxie n'est pas liée à une raréfaction capillaire dans notre modèle. Moléculairement, nous expliquons la présence de ces microthrombi par l'augmentation du vWF à la surface des CE favorisant l'adhésion et l'agrégation plaquettaire (Reininger et al. 2006). De plus, il a été mis en évidence que l'augmentation de ce facteur est très souvent associée à une augmentation du risque cardiovasculaire (Frankel et al. 2008) et à un mauvais pronostic chez les patients atteints d'ICFEP (Abudoukelimu et al. 2022b). Nous ne pouvons pas exclure à ce stade que la microthrombose dans notre modèle ne soit pas lié au PAI-1, puisqu'un lien entre signalisation Hh et ce dernier a déjà été évoqué dans la littérature (Teng et al. 2012).

Dans notre modèle Dhh^{ECKO} , la perte de signalisation DHH autocrine des CE est capable d'induire en 1 mois une dysfonction diastolique (intolérance à l'effort, élévation de pression télédiastolique, Tau et dp/dt min) relativement similaire à celle observée chez les patients atteints d'ICFEP. En effet, chez ces derniers, une intolérance à l'effort, un défaut de relaxation VG et une augmentation de la pression télédiastolique au repos sont très souvent observés (Obokata, Reddy, and Borlaug 2020). Cette observation constitue une preuve supplémentaire aux modèles rongeurs $Sirt1^{ECKO}$, $Sirt3^{ECKO}$ (Maizel et al. 2014a; X. He et al. 2017; Zeng, He, and Chen 2020), Tg-ADRB3 (Dhot et al. 2020) et Tg-PDZRN3 (Abelanet et al. 2022b) suggérant qu'une modification des propriétés des CE vasculaires et une dysfonction endothéliale seraient capables d'induire une dysfonction diastolique.

Afin d'approfondir les mécanismes par lesquels l'absence du ligand endothélial est capable de provoquer une dysfonction diastolique, nous avons phénotypé les cardiomyocytes des souris Dhh^{ECKO} . Ce phénotype fonctionnel dans notre modèle Dhh^{ECKO} pourrait être associé à une modulation de la rigidité des cardiomyocytes. En effet, dans ce modèle, l'assemblage des myofilaments et la stabilité de la titine sont perturbés par l'augmentation de l'expression génique de Acta1 (α actine squelettique) et

de T-cap associés à l'IC (Hayashi et al. 2004; Valero-Muñoz et al. 2022; D.-S. Lim, Roberts, and Marian 2001).

Conformément à ce qui est observé dans l'IC (Makarenko et al. 2004), l'augmentation des pressions télédiastoliques dans notre modèle est compensée par la surexpression de l'isoforme cardiaque la plus compliant de la titine N2A. En revanche, la perte de phosphorylation de l'isoforme N2B a souvent été associée à l'ICFep (Zile et al. 2015; Hamdani, Franssen, et al. 2013; Borbély et al. 2009), mais elle est inchangée dans notre modèle. Ce résultat d'après la théorie de Paulus et collaborateurs (Walter J. Paulus and Tsch 2013) concorde avec l'absence d'altération de la vaso-relaxation dépendante de l'endothélium induit par l'acétylcholine et les niveaux égaux de NOS3 dans notre modèle murin.

Notre modèle présente des discordances avec la littérature. En effet, nos résultats sont opposés à ceux de la littérature concernant l'expression de la Myh7 généralement augmentée dans l'IC (Vigil-Garcia et al. 2021). En outre, nous n'observons pas de fibrose interstitielle et de variations de taux de collagènes fibrillaires, pourtant toutes deux décrites dans l'ICFep (Duca et al. 2016; Angeli et al. 2022). Bien que nous n'ayons investigué qu'une petite partie du remodelage matriciel dans nos expériences, la composition de la MEC ne semble pas avoir d'impact sur la perte de compliance observée chez les Dhh^{ECKO}. Cependant, nos résultats sont en accord avec la littérature puisqu'une grande majorité de modèles murins de dysfonction diastoliques présentent également une fibrose périvasculaire plutôt qu'une fibrose interstitielle (Cornuault et al. 2022a). Ce type de fibrose pourrait contribuer à modifier le phénotype des cardiomyocytes en augmentant leur distance de diffusion avec les CE, et en diminuant la diffusion de l'oxygène, des acides gras, du glucose et des molécules de signalisation (M. Sweeney, Corden, and Cook 2020).

Dans l'ICFep, les mécanismes participant à la relaxation active sont altérés (Phan, Abozguia, Nallur Shivu, et al. 2009) et contribuent à la dysfonction diastolique. En diastole, la recapture du calcium vers le réticulum sarcoplasmique est essentielle à la relaxation et dépend notamment de la phosphorylation de l'inhibiteur de la SERCA2a : PLN. L'altération de la relaxation active observée ex vivo et in vivo chez les Dhh^{ECKO} est liée à une diminution de la phosphorylation du PLN au site thréonine 17. Cette diminution est également observée dans d'autres modèles murins ayant une dysfonction diastolique (Rouhana et al. 2019; K. Tanaka et al. 2014) dont les souris Lepr^{db/db} (Reil et al. 2013).

Connaissant le potentiel lien non établi entre la dysfonction endothéliale et la modification des propriétés des cardiomyocytes (Cornuault et al. 2022b), nous avons voulu évaluer la part de la thrombose des capillaires coronaires et de l'hypoxie sur le cardiomyocyte. La perte de perfusion de l'ordre de 10 pour cent des capillaires observés dans le modèle Dhh^{ECKO} pourrait être à l'origine de l'altération de l'oxygénation du myocarde observée chez les patients atteints d'ICFep (van Empel et al. 2014b).

Jusqu'à présent, la thrombose microvasculaire coronaire n'a jamais été associée à l'ICFep, mais a été mise en évidence dans le cadre du COVID-19 (Pellegrini et al. 2021). En revanche, il est relativement admis un lien étroit entre l'ICFep et les comorbidités cardiovasculaires et non

cardiovasculaires. Ces comorbidités ont elles-mêmes des perturbations de l'intégrité endothéliale et de la régulation de l'hémostase (HTA (G. Y. H. Lip and Blann 2000), DT2 (Dunn, Ariëns, and Grant 2005), obésité (Samad and Ruf 2013b), FA (Lutsey et al. 2018), pathologie rénale chronique, âge (Daniela Mari et al. 2008) et sexe féminin).

Nous démontrons *in vitro* que l'hypoxie cardiomyocytaire n'est pas directement responsable du défaut de phosphorylation du PLN, mais de l'augmentation de Tcap et d'Acta1 tous deux impliqués dans l'augmentation rigidity passive cardiomyocytaire. L'implication de Tcap dans ce processus serait liée à la protéine téléthonine démontrée comme régulant l'intégrité structurelle du sarcomère en association avec la titine dans le disque Z (Gregorio et al. 1998; Valle et al. 1997). En outre, dans l'analyse transcriptomique des extraits totaux de ventricules des Dhh^{ECKO} et *in vitro* dans les cardiomyocytes hypoxiques, l'augmentation de Tcap est corrélée à celle de Per2 (Period Circadian Regulator 2) contrôlant son expression (Podobed et al. 2014). L'augmentation de Acta1 est majoritairement observée lors d'une dysfonction contractile des cardiomyocytes et leur dédifférenciation pathologique à la suite d'une surcharge hémodynamique (Driesen et al. 2009; Winegrad, Wisnewsky, and Schwartz 1990).

Il est nécessaire de prendre en compte que nous n'avons pas étudié si l'expression des isoformes de la titine était modulée de manière similaire à celle observée chez les souris Dhh^{ECKO} en condition hypoxique. La titine étant un acteur majeur de la répartition des forces radiales exercées sur les myofilaments et leur affinité au Ca²⁺, toute interaction avec cette dernière peut moduler la rigidity passive.

Il est supposé que l'inflammation systémique pourrait participer à la physiopathologie de l'ICFep (van Heerebeek et al. 2006; Walter J. Paulus and Tsch 2013) en affectant l'endothélium et en participant au développement de la dysfonction diastolique (Glezeva et al. 2015a; Abernethy et al. 2018). *In vitro*, nous avons mis en évidence un lien direct entre inflammation (IL-6) et altération de la relaxation active VG au travers d'un défaut de fonction de la SERCA2a possiblement induit par une augmentation de l'inhibiteur de la CAMKII : Neurogranine (Jorgensen et al. 2022). L'augmentation de l'infiltrat de leucocytes CD45+ et l'activation mastocytaire pourrait être responsable de l'inflammation médiée par l'IL-6 décrite comme pouvant moduler le phénotype des cardiomyocytes dans des modèles murins d'IC (L. Zhao et al. 2016; G. E. González et al. 2015). De plus, l'IL-6 a été associée au développement (Chia et al. 2021) et au mauvais pronostic de l'ICFep (Mooney et al. 2023).

La présence d'une microthrombose capillaire dans les modèles transgéniques (Smo^{ECKO}, Dhh^{ECKO}) est également observée dans le modèle physiopathologique (DT2 et obésité) Lepr^{db/db}. Ces résultats sont en accord avec l'analyse par séquençage d'ARN de la fraction vasculaire des souris Lepr^{db/db} indiquant que les processus d'hémostase étaient augmentés par rapport aux souris contrôles (Guimbal et al. 2021c). En outre, chez les patients diabétiques (Nahser et al. 1995) et obèses (Bajaj et al. 2018), une altération de la réserve de flux coronaire est observée. Chez ces patients, des anomalies de la régulation de l'hémostase primaire, de la coagulation plasmatique et de la fibrinolyse sont

également observés (Vaidyula et al. 2006; Varo et al. 2005; Boden et al. 2007; Alzahrani and Ajjan 2010; Paton 2013; Russo et al. 2010; Solá et al. 2007; Mutch, Wilson, and Booth 2001).

Afin d'étudier si l'augmentation d'Hhpl1 chez les *Lepr^{db/db}* est délétère et qu'elle est responsable de l'augmentation de la microthrombose capillaire, nous avons cherché à développer un modèle de souris déficientes pour Hhpl1 que nous pourrions ensuite soumettre à un régime HFD/STZ afin d'induire un DT2 (Reed et al. 2000; King 2012). Dans un premier temps, en accord avec la littérature, nous avons observé que le régime HFD/STZ est capable d'induire un DT2. En revanche, nous n'avons pas été en mesure d'observer une dysfonction diastolique après régime HFD/STZ contrairement à ce qui a été mis en évidence par Epp et collaborateurs. Ces auteurs observaient une diminution du ratio E/A en échographie et du dp/dt min par cathétérisation chez des rats mâles Sprague–Dawley (Epp et al. 2013). Il existe des différences entre notre protocole et celui des auteurs pouvant expliquer l'absence d'effet du régime sur la fonction diastolique dans notre modèle murin. Ces différences concernent notamment la dose de STZ (40 mg/kg vs 35 mg/kg), le régime HFD (60 % vs 40 %), le sexe (femelles vs mâles) et l'espèce (souris vs rat). Une autre étude a également montré une altération de la fonction diastolique au travers d'une seule différence de ratio E/A en échographie sur des souris mâles FVB/N soumis à un régime HFD à 40 % et 5 injections de STZ à 55 mg/kg (C. D. Cohen et al. 2021).

Alors que dans l'ICFEr la présence d'un état « prothrombotique » est relativement établie (Siniarski et al. 2023; Jafri 1997), l'impact de l'ICFEp sur l'hémostase n'a pas encore été mis en évidence. Le potentiel bénéfique d'un traitement antiagrégant (aspirine 75 mg/jour) sur la mortalité et l'hospitalisation dans une cohorte incluant des patients atteints d'ICFEr et d'ICFEp avait été évoqué (Bermingham et al. 2014). Malgré ce constat, le bénéfice des traitements antithrombotiques (antiagrégants et anticoagulants) a jusqu'à présent seulement été évalué dans des études incluant des patients atteints d'ICFEr chronique (HELAS, PLUTO-CHF, WASH, WATCH, WARCEF). Le bénéfice des agents antiagrégants reste encore inconnu dans le cadre d'une ICFEp chronique (Glezeva et al. 2016). Dans ce contexte, nous avons ensuite voulu évaluer si la microthrombose coronaire et l'hypoxie à elles seules étaient capables d'induire une dysfonction diastolique. À l'aide de thérapies préventives antiagrégantes (Clopidogrel et Aspirine), nous mettons en évidence pour la première fois qu'un défaut de signalisation autocrine de DHH sur la CE, résultant de l'augmentation de l'expression d'un récepteur leurre Hhpl1 en condition de DT2 est capable d'induire le développement d'une dysfonction diastolique par l'intermédiaire d'une thrombose capillaire coronaire.

Notre travail bien que réalisé sur un modèle murin et n'investiguant qu'un possible phénotype de patients « métaboliques, obèses » apporte une potentielle réponse aux hypothèses soulevées par Glezeva et collaborateurs (Glezeva et al. 2016). Elle propose une explication aux effets bénéfiques de l'aspirine à faible dose sur la mortalité et les hospitalisations dans une cohorte incluant des patients atteints d'ICFEp (Bermingham et al. 2014). En effet, chez les souris *Lepr^{db/db}*, un traitement curatif antiagrégant (clopidogrel) permet d'améliorer significativement la fonction diastolique (pression télédiastolique, tau) et la tolérance à l'effort.

La thrombose microvasculaire, en plus d'aggraver l'hypoxie cardiaque comme proposée par Tang et collaborateurs (Tang et al. 2022), semble également intervenir dans la modulation de l'inflammation et de la fibrose. En effet, ces thérapies antiagrégantes préventives et curatives ont toutes deux eu un effet bénéfique sur l'infiltrat de cellules inflammatoires et l'activation mastocytaire. Il est fort possible que la prévention (thérapie préventive) ou la réduction du nombre de microthrombi coronaires (thérapie curative) soit à l'origine de ces effets anti-inflammatoires et anti-fibrotiques puisqu'il a été démontré que l'hypoxie est capable d'induire l'inflammation (Eltzschig and Carmeliet 2011) et la fibrose (Dai et al. 2021; Sui, Wei, and Wang 2015). La relation entre inflammation et thrombose existant sous le terme « d'immunothrombose ou thromboinflammation » est proposée comme aggravant le risque d'évènements cardiovasculaires (Stark and Massberg 2021). Ainsi, la modulation de l'un de ces deux acteurs, permettrait d'améliorer la fonction cardiaque de nos animaux. En outre, en accord avec les données des Dhh^{ECKO}, il est démontré que les plaquettes activées favorisent l'adhésion des monocytes à l'endothélium par l'intermédiaire de CCL5 (von Hundelshausen et al. 2001b). Cette augmentation de CCL5 observée chez les Dhh^{ECKO} peut également être liée à l'augmentation de l'expression du facteur HIF1A (S. Lin et al. 2012).

Une perspective à ce projet serait de quantifier les NETs dans souris Dhh^{ECKO} et Lepr^{db/db}. Ces derniers étant des contributeurs majeurs de l'immunothrombose et leur blocage ont récemment été montrés comme bénéfiques chez la souris avec dysfonction diastolique (Xin-Lin Zhang et al. 2022).

Nos données suggèrent un rôle antérieur de la thrombose à l'activation des mastocytes dans la survenue de la dysfonction diastolique expliquant l'absence d'effet d'une thérapie curative ciblant l'activation mastocytaire (*données non publiées*). Ces résultats concordent avec les données de la littérature suggérant le rôle de l'hypoxie dans l'augmentation de la synthèse d'IL-6 par le mastocyte (Gulliksson et al. 2010), les cardiomyocytes (Matsui et al. 1999), et l'augmentation d'IL-6 chez les souris Lepr^{db/db} (Guimbal et al. 2021c). L'ensemble des observations ci-dessus concorde avec l'amélioration de la relaxation active (Tau) observée après un traitement curatif antiagrégant chez ces souris dans ce travail de thèse. Enfin dans notre précédente étude (Guimbal et al. 2021c), la dégranulation d'histamine que nous avons proposée comme mécanisme responsable de la dysfonction diastolique chez les souris Lepr^{db/db} peut également être induite en condition hypoxique (Möllerherm et al. 2017).

VI. LIMITES ET PERSPECTIVES

L'une des limites à ce travail est l'absence de lien moléculaire direct entre l'augmentation du vWF à la surface des CE et le défaut de signalisation médié par DHH.

Dans le cadre de ce travail, nous n'avons pas étudié plus amplement les caractéristiques de l'hémostase (fonctions plaquettaire, marqueurs de coagulation).

Nous n'avons pas non plus étudié les effets des traitements antiagrégants sur les acteurs de la rigidité passive et active modulés chez les souris Dhh^{EKO} et dans une certaine mesure chez les souris $Lepr^{db/db}$ (Reil et al. 2013).

L'ICFep possède une hétérogénéité phénotypique contribuant notamment à la difficulté de compréhension de la physiopathologie (Peters et al. 2022). Notre étude observe majoritairement les effets associés à l'obésité et au DT2 sur la voie Hh et le développement de la dysfonction diastolique. Nous pouvons également noter que dans notre étude, le nombre de microthrombi et les effets de la thérapie varient entre les différentes souris $Lepr^{db/db}$ au sein d'un même groupe expérimental. Ces effets peuvent dépendre du taux de glycémie et de la prise du médicament dans l'eau de boisson. Cette variabilité est en accord avec celle observée chez les patients atteints de DT2, pour lesquels il existe certaines formes de résistance à l'aspirine (Rocca et al. 2012) et au clopidogrel (Angiolillo et al. 2007). Il pourrait être intéressant de tester si l'association entre ces deux médicaments aura un effet bénéfique supérieur à la monothérapie (Serebruany et al. 2003b).

Enfin, il pourrait être intéressant d'observer si le phénomène de microthrombose coronaire est présent dans d'autres modèles de dysfonction diastolique et chez les patients atteints d'ICFep. Si cela vient à être confirmé, une des perspectives à ce projet serait de réaliser une étude prospective et contrôlée permettant d'évaluer le bénéfice éventuel d'un traitement antiagrégant dans une population d'ICFep.

VII. BIBLIOGRAPHIE

- Abbate, R., D. Prisco, C. Rostagno, M. Boddi, and G. F. Gensini. 1993. "Age-Related Changes in the Hemostatic System." *International Journal of Clinical & Laboratory Research* 23 (1): 1–3. <https://doi.org/10.1007/BF02592271>.
- Abdul-Rahim, Azmil H., Ana-Cristina Perez, Rachael L. MacIsaac, Pardeep S. Jhund, Brian L. Claggett, Peter E. Carson, Michel Komajda, et al. 2017. "Risk of Stroke in Chronic Heart Failure Patients with Preserved Ejection Fraction, but without Atrial Fibrillation: Analysis of the CHARM-Preserved and I-Preserve Trials." *European Heart Journal* 38 (10): 742–50. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehw509>.
- Abelanet, Alice, Marion Camoin, Sebastien Rubin, Pauline Bougaran, Valentin Delobel, Mathieu Pernot, Isabelle Forfar, et al. 2022a. "Increased Capillary Permeability in Heart Induces Diastolic Dysfunction Independently of Inflammation, Fibrosis, or Cardiomyocyte Dysfunction." *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, May, 101161ATVBAHA121317319. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.121.317319>.
- Abernethy, Abraham, Sadi Raza, Jie-Lena Sun, Kevin J. Anstrom, Russell Tracy, Johannes Steiner, Peter VanBuren, and Martin M. LeWinter. 2018. "Pro-Inflammatory Biomarkers in Stable Versus Acutely Decompensated Heart Failure With Preserved Ejection Fraction." *Journal of the American Heart Association* 7 (8): e007385. <https://doi.org/10.1161/JAHA.117.007385>.
- AbouEzzeddine, Omar F., Paul M. McKie, Shannon M. Dunlay, Susanna R. Stevens, G. Michael Felker, Barry A. Borlaug, Horng H. Chen, Russell P. Tracy, Eugene Braunwald, and Margaret M. Redfield. 2017. "Suppression of Tumorigenicity 2 in Heart Failure With Preserved Ejection Fraction." *Journal of the American Heart Association* 6 (2): e004382. <https://doi.org/10.1161/JAHA.116.004382>.
- Abudoukelimu, Mayila, Bayinsilema Ba, Yan Kai Guo, and Jie Xu. 2022a. "Von Willebrand Factor (vWF) in Patients with Heart Failure with Preserved Ejection Fraction (HFpEF): A Retrospective Observational Study." *Medicine* 101 (31): e29854. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000029854>.
- Adachi, Takuji, Naoki Iritani, Kuniyasu Kamiya, Kotaro Iwatsu, Kenta Kamisaka, Yuki Iida, and Sumio Yamada. 2022. "Prognostic Effects of Cardiac Rehabilitation in Patients With Heart Failure (from a Multicenter Prospective Cohort Study)." *The American Journal of Cardiology* 164 (February): 79–85. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2021.10.038>.
- Adams, Mark N., Rithwik Ramachandran, Mei-Kwan Yau, Jacky Y. Suen, David P. Fairlie, Morley D. Hollenberg, and John D. Hooper. 2011. "Structure, Function and Pathophysiology of Protease Activated Receptors." *Pharmacology & Therapeutics* 130 (3): 248–82. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2011.01.003>.
- Adolphe, Christelle, Rehan Hetherington, Tammy Ellis, and Brandon Wainwright. 2006. "Patched1 Functions as a Gatekeeper by Promoting Cell Cycle Progression." *Cancer Research* 66 (4): 2081–88. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-05-2146>.
- Agouni, Abdelali, H. Ahmed Mostefai, Chiarra Porro, Nunzia Carusio, Julie Favre, Vincent Richard, Daniel Henrion, M. Carmen Martínez, and Ramarosan Andriantsitohaina. 2007. "Sonic Hedgehog Carried by Microparticles Corrects Endothelial Injury through Nitric Oxide Release." *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 21 (11): 2735–41. <https://doi.org/10.1096/fj.07-8079com>.
- Ahn, Sohyun, and Alexandra L. Joyner. 2005. "In Vivo Analysis of Quiescent Adult Neural Stem Cells Responding to Sonic Hedgehog." *Nature* 437 (7060): 894–97. <https://doi.org/10.1038/nature03994>.
- Aimo, Alberto, James L. Januzzi, Antoni Bayes-Genis, Giuseppe Vergaro, Paolo Sciarra, Claudio Passino, and Michele Emdin. 2019. "Clinical and Prognostic Significance of sST2 in

- Heart Failure: JACC Review Topic of the Week." *Journal of the American College of Cardiology* 74 (17): 2193–2203. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2019.08.1039>.
- Aird, William C. 2007. "Phenotypic Heterogeneity of the Endothelium." *Circulation Research* 100 (2): 158–73. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000255691.76142.4a>.
- Akiyama, Eiichi, Seigo Sugiyama, Yasushi Matsuzawa, Masaaki Konishi, Hiroyuki Suzuki, Toshimitsu Nozaki, Keisuke Ohba, et al. 2012. "Incremental Prognostic Significance of Peripheral Endothelial Dysfunction in Patients with Heart Failure with Normal Left Ventricular Ejection Fraction." *Journal of the American College of Cardiology* 60 (18): 1778–86. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2012.07.036>.
- Aksel, Tural, Elizabeth Choe Yu, Shirley Sutton, Kathleen M. Ruppel, and James A. Spudich. 2015. "Ensemble Force Changes That Result from Human Cardiac Myosin Mutations and a Small-Molecule Effector." *Cell Reports* 11 (6): 910–20. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.04.006>.
- Alehagen, Urban, Ulf Dahlström, and Tomas L. Lindahl. 2004. "Elevated D-Dimer Level Is an Independent Risk Factor for Cardiovascular Death in out-Patients with Symptoms Compatible with Heart Failure." *Thrombosis and Haemostasis* 92 (6): 1250–58. <https://doi.org/10.1160/TH04-05-0278>.
- Allen, Benjamin L., Jane Y. Song, Luisa Izzi, Irene W. Althaus, Jong-Sun Kang, Frédéric Charron, Robert S. Krauss, and Andrew P. McMahon. 2011. "Overlapping Roles and Collective Requirement for the Co-Receptors Gas1, Cdo and Boc in Shh Pathway Function." *Developmental Cell* 20 (6): 775–87. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2011.04.018>.
- Allen, Benjamin L., Toyooki Tenzen, and Andrew P. McMahon. 2007. "The Hedgehog-Binding Proteins Gas1 and Cdo Cooperate to Positively Regulate Shh Signaling during Mouse Development." *Genes & Development* 21 (10): 1244–57. <https://doi.org/10.1101/gad.1543607>.
- Alom-Ruiz, Sara P., Narayana Anilkumar, and Ajay M. Shah. 2008. "Reactive Oxygen Species and Endothelial Activation." *Antioxidants & Redox Signaling* 10 (6): 1089–1100. <https://doi.org/10.1089/ars.2007.2007>.
- Alvarez, Jorge Ivan, Aurore Dodelet-Devillers, Hania Kebir, Igal Ifergan, Pierre J. Fabre, Simone Terouz, Mike Sabbagh, et al. 2011. "The Hedgehog Pathway Promotes Blood-Brain Barrier Integrity and CNS Immune Quiescence." *Science (New York, N.Y.)* 334 (6063): 1727–31. <https://doi.org/10.1126/science.1206936>.
- Alzahrani, S. H., and R. A. Ajjan. 2010. "Coagulation and Fibrinolysis in Diabetes." *Diabetes & Vascular Disease Research* 7 (4): 260–73. <https://doi.org/10.1177/1479164110383723>.
- Amin, Huma, Shahida Mohsin, Maria Aslam, Shabbir Hussain, Tahir Saeed, M. Ikram Ullah, and Waqas Sami. 2012. "Coagulation Factors and Antithrombin Levels in Young and Elderly Subjects in Pakistani Population." *Blood Coagulation & Fibrinolysis: An International Journal in Haemostasis and Thrombosis* 23 (8): 745–50. <https://doi.org/10.1097/MBC.0b013e328358e913>.
- Ammollo, C. T., F. Semeraro, J. Xu, N. L. Esmo, and C. T. Esmo. 2011. "Extracellular Histones Increase Plasma Thrombin Generation by Impairing Thrombomodulin-Dependent Protein C Activation." *Journal of Thrombosis and Haemostasis: JTH* 9 (9): 1795–1803. <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2011.04422.x>.
- Anand, Inder S., Brian Claggett, Jiankang Liu, Amil M. Shah, Thomas S. Rector, Sanjiv J. Shah, Akshay S. Desai, et al. 2017. "Interaction Between Spironolactone and Natriuretic Peptides in Patients With Heart Failure and Preserved Ejection Fraction: From the TOPCAT Trial." *JACC. Heart Failure* 5 (4): 241–52. <https://doi.org/10.1016/j.jchf.2016.11.015>.
- Anand, Sonia S. 2017. "Smoking." *Circulation* 135 (1): 17–20. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.116.025024>.
- Andrews, R. K., E. E. Gardiner, Y. Shen, J. C. Whisstock, and M. C. Berndt. 2003. "Glycoprotein Ib–IX–V." *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 35 (8): 1170–74. [https://doi.org/10.1016/S1357-2725\(02\)00280-7](https://doi.org/10.1016/S1357-2725(02)00280-7).
- Andrews, S. 2010. "FastQC: A Quality Control Tool for High Throughput Sequence Data," 2010.

- Angeli, E, A Reese-Petersen, A Gonzalez, B Lopez, S Ravassa, F Genovese, M Karsdal, and J Diaz. 2022. "Type III Collagen Formation Is Significantly Associated with Risk of Outcome in HFpEF Patients but Loses Its Significant Association with Underlying AF." *European Heart Journal* 43 (Supplement_2): ehac544.792. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehac544.792>.
- Angiolillo, Dominick J., Steven B. Shoemaker, Bhaloo Desai, Hang Yuan, Ronald K. Charlton, Esther Bernardo, Martin M. Zenni, Luis A. Guzman, Theodore A. Bass, and Marco A. Costa. 2007. "Randomized Comparison of a High Clopidogrel Maintenance Dose in Patients with Diabetes Mellitus and Coronary Artery Disease: Results of the Optimizing Antiplatelet Therapy in Diabetes Mellitus (OPTIMUS) Study." *Circulation* 115 (6): 708–16. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.667741>.
- Anjan, Venkatesh Y., Timothy M. Loftus, Michael A. Burke, Nausheen Akhter, Gregg C. Fonarow, Mihai Gheorghide, and Sanjiv J. Shah. 2012. "Prevalence, Clinical Phenotype, and Outcomes Associated with Normal B-Type Natriuretic Peptide Levels in Heart Failure with Preserved Ejection Fraction." *The American Journal of Cardiology* 110 (6): 870–76. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2012.05.014>.
- Anker, Stefan D., Javed Butler, Gerasimos Filippatos, João P. Ferreira, Edimar Bocchi, Michael Böhm, Hans-Peter Brunner-La Rocca, et al. 2021. "Empagliflozin in Heart Failure with a Preserved Ejection Fraction." *The New England Journal of Medicine* 385 (16): 1451–61. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2107038>.
- Aoki, I., K. Shimoyama, N. Aoki, M. Homori, A. Yanagisawa, K. Nakahara, Y. Kawai, S. I. Kitamura, and K. Ishikawa. 1996. "Platelet-Dependent Thrombin Generation in Patients with Diabetes Mellitus: Effects of Glycemic Control on Coagulability in Diabetes." *Journal of the American College of Cardiology* 27 (3): 560–66. [https://doi.org/10.1016/0735-1097\(95\)00518-8](https://doi.org/10.1016/0735-1097(95)00518-8).
- Aravani, Dimitra, Gavin E. Morris, Peter D. Jones, Helena K. Tattersall, Elisavet Karamanavi, Michael A. Kaiser, Renata B. Kostogrys, et al. 2019a. "HHIPL1, a Gene at the 14q32 Coronary Artery Disease Locus, Positively Regulates Hedgehog Signaling and Promotes Atherosclerosis." *Circulation* 140 (6): 500–513. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.119.041059>.
- Arbab-Zadeh, Armin, Erika Dijk, Anand Prasad, Qi Fu, Pilar Torres, Rong Zhang, James D. Thomas, Dean Palmer, and Benjamin D. Levine. 2004. "Effect of Aging and Physical Activity on Left Ventricular Compliance." *Circulation* 110 (13): 1799–1805. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000142863.71285.74>.
- Ariëns, R. A., H. P. Kohler, M. W. Mansfield, and P. J. Grant. 1999. "Subunit Antigen and Activity Levels of Blood Coagulation Factor XIII in Healthy Individuals. Relation to Sex, Age, Smoking, and Hypertension." *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 19 (8): 2012–16. <https://doi.org/10.1161/01.atv.19.8.2012>.
- "Assessment of Diastolic Function by Echocardiography." n.d. *ECG & ECHO* (blog). Accessed May 12, 2023. <https://ecgwaves.com/topic/assessment-of-diastolic-function-by-echocardiography/>.
- Azzoni, E., V. Conti, L. Campana, A. Dellavalle, R. H. Adams, G. Cossu, and S. Brunelli. 2014. "Hemogenic Endothelium Generates Mesoangioblasts That Contribute to Several Mesodermal Lineages in Vivo." *Development* 141 (9): 1821–34. <https://doi.org/10.1242/dev.103242> 141/9/1821.
- Babagana, Mahamat, Kyu-Seon Oh, Sayantan Chakraborty, Alicja Pacholewska, Mohammad Aqdas, and Myong-Hee Sung. 2021. "Hedgehog Dysregulation Contributes to Tissue-Specific Inflammation of Resident Macrophages." *Aging* 13 (15): 19207–29. <https://doi.org/10.18632/aging.203422>.
- Bae, Jong-Sup, and Alireza R. Rezaie. 2010. "Thrombin Up-Regulates the Angiopoietin/Tie2 Axis: EPCR Occupancy Prevents the Thrombin Mobilization of Angiopoietin2 and P-Selectin from Weibel-Palade Bodies." *Journal of Thrombosis and Haemostasis: JTH* 8 (5): 1107–15. <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2010.03812.x>.
- Baena-Fustegueras, Juan A., Eva Pardina, Eva Balada, Roser Ferrer, Roberto Catalán, Joaquín Rivero, Isidre Casals, et al. 2013. "Soluble CD40 Ligand in Morbidly Obese Patients: Effect of Body Mass Index on Recovery to Normal Levels after Gastric Bypass Surgery." *JAMA Surgery* 148 (2): 151–56. <https://doi.org/10.1001/jamasurgery.2013.419>.

- Bahramali, Ehsan, Negar Firouzabadi, Mona Rajabi, Alireza Manafi, Mehrdad Zarghami, Seyyed Mohammad Mousavi, and Javad Jamshidi. 2017. "Association of Renin-Angiotensin-Aldosterone System Gene Polymorphisms with Left Ventricular Hypertrophy in Patients with Heart Failure with Preserved Ejection Fraction: A Case-Control Study." *Clinical and Experimental Hypertension (New York, N.Y.: 1993)* 39 (4): 371–76. <https://doi.org/10.1080/10641963.2016.1267196>.
- Bahramali, Ehsan, Mona Rajabi, Javad Jamshidi, Seyyed Mohammad Mousavi, Mehrdad Zarghami, Alireza Manafi, and Negar Firouzabadi. 2016. "Association of ACE Gene D Polymorphism with Left Ventricular Hypertrophy in Patients with Diastolic Heart Failure: A Case-Control Study." *BMJ Open* 6 (2): e010282. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2015-010282>.
- Bai, Jing, Xiang Ding, Xiaohui Du, Xiangfeng Zhao, Zhiquan Wang, and Zhiqiang Ma. 2015. "Diabetes Is Associated with Increased Risk of Venous Thromboembolism: A Systematic Review and Meta-Analysis." *Thrombosis Research* 135 (1): 90–95. <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2014.11.003>.
- Bajaj, Navkaranbir S., Michael T. Osborne, Ankur Gupta, Ali Tavakkoli, Paco E. Bravo, Tomas Vita, Courtney F. Bibbo, et al. 2018. "Coronary Microvascular Dysfunction and Cardiovascular Risk in Obese Patients." *Journal of the American College of Cardiology* 72 (7): 707–17. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2018.05.049>.
- Baldus, Stephan, Kai Müllerleile, Phil Chumley, Daniel Steven, Volker Rudolph, Gunnar K. Lund, Hans-Jürgen Staude, et al. 2006. "Inhibition of Xanthine Oxidase Improves Myocardial Contractility in Patients with Ischemic Cardiomyopathy." *Free Radical Biology & Medicine* 41 (8): 1282–88. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2006.07.010>.
- Balleisen, L., J. Bailey, P. H. Epping, H. Schulte, and J. van de Loo. 1985. "Epidemiological Study on Factor VII, Factor VIII and Fibrinogen in an Industrial Population: I. Baseline Data on the Relation to Age, Gender, Body-Weight, Smoking, Alcohol, Pill-Using, and Menopause." *Thrombosis and Haemostasis* 54 (2): 475–79.
- Bambakidis, Nicholas C., Mary Petrullis, Xu Kui, Brian Rothstein, Ioannis Karampelas, Youzhi Kuang, Warren R. Selman, Joseph C. LaManna, and Robert H. Miller. 2012. "Improvement of Neurological Recovery and Stimulation of Neural Progenitor Cell Proliferation by Intrathecal Administration of Sonic Hedgehog." *Journal of Neurosurgery* 116 (5): 1114–20. <https://doi.org/10.3171/2012.1.JNS111285>.
- Bang, M. L., T. Centner, F. Fornoff, A. J. Geach, M. Gotthardt, M. McNabb, C. C. Witt, et al. 2001. "The Complete Gene Sequence of Titin, Expression of an Unusual Approximately 700-kDa Titin Isoform, and Its Interaction with Obscurin Identify a Novel Z-Line to I-Band Linking System." *Circulation Research* 89 (11): 1065–72. <https://doi.org/10.1161/hh2301.100981>.
- Barazzoni, R., M. Zanetti, G. Davanzo, E. Kiwanuka, P. Carraro, A. Tiengo, and P. Tessari. 2000. "Increased Fibrinogen Production in Type 2 Diabetic Patients without Detectable Vascular Complications: Correlation with Plasma Glucagon Concentrations." *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 85 (9): 3121–25. <https://doi.org/10.1210/jcem.85.9.6779>.
- Barchetta, I., F. A. Cimini, R. De Gioannis, G. Ciccarelli, L. Bertocchini, A. Lenzi, M. G. Baroni, and M. G. Cavallo. 2018. "Procollagen-III Peptide Identifies Adipose Tissue-Associated Inflammation in Type 2 Diabetes with or without Nonalcoholic Liver Disease." *Diabetes/Metabolism Research and Reviews* 34 (5): e2998. <https://doi.org/10.1002/dmrr.2998>.
- Barnes, E. A., M. Kong, V. Ollendorff, and D. J. Donoghue. 2001. "Patched1 Interacts with Cyclin B1 to Regulate Cell Cycle Progression." *The EMBO Journal* 20 (9): 2214–23. <https://doi.org/10.1093/emboj/20.9.2214>.
- Barnes, Elizabeth A., Keely J. Heidtman, and Daniel J. Donoghue. 2005. "Constitutive Activation of the Shh-Ptc1 Pathway by a Patched1 Mutation Identified in BCC." *Oncogene* 24 (5): 902–15. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1208240>.
- Barrick, Samantha K., and Michael J. Greenberg. 2021. "Cardiac Myosin Contraction and Mechanotransduction in Health and Disease." *The Journal of Biological Chemistry* 297 (5): 101297. <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2021.101297>.

- Basili, Stefania, Giovanni Pacini, Maria Teresa Guagnano, Maria Rosaria Manigrasso, Francesca Santilli, Caterina Pettinella, Giovanni Ciabattini, Carlo Patrono, and Giovanni Davì. 2006. "Insulin Resistance as a Determinant of Platelet Activation in Obese Women." *Journal of the American College of Cardiology* 48 (12): 2531–38. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2006.08.040>.
- Bastelica, Delphine, Pierre Morange, Bruno Berthet, Hélène Borghi, Odile Lacroix, Michel Grino, Ir ene Juhan-Vague, and Marie-Christine Alessi. 2002. "Stromal Cells Are the Main Plasminogen Activator Inhibitor-1-Producing Cells in Human Fat." *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 22 (1): 173–78. <https://doi.org/10.1161/hq0102.101552>.
- Bastyr, E. J., M. M. Kadrofske, and A. I. Vinik. 1990. "Platelet Activity and Phosphoinositide Turnover Increase with Advancing Age." *The American Journal of Medicine* 88 (6): 601–6. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(90\)90525-i](https://doi.org/10.1016/0002-9343(90)90525-i).
- Bauer, K. A., B. L. Kass, H. ten Cate, J. J. Hawiger, and R. D. Rosenberg. 1990. "Factor IX Is Activated in Vivo by the Tissue Factor Mechanism." *Blood* 76 (4): 731–36.
- Bauer, K. A., and R. D. Rosenberg. 1991. "Role of Antithrombin III as a Regulator of in Vivo Coagulation." *Seminars in Hematology* 28 (1): 10–18.
- Bauer, K. A., L. M. Weiss, D. Sparrow, P. S. Vokonas, and R. D. Rosenberg. 1987. "Aging-Associated Changes in Indices of Thrombin Generation and Protein C Activation in Humans. Normative Aging Study." *The Journal of Clinical Investigation* 80 (6): 1527–34. <https://doi.org/10.1172/JCI113238>.
- Baugh, R. J., G. J. Broze, and S. Krishnaswamy. 1998. "Regulation of Extrinsic Pathway Factor Xa Formation by Tissue Factor Pathway Inhibitor." *The Journal of Biological Chemistry* 273 (8): 4378–86. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.8.4378>.
- Bazzoni, Gianfranco, and Elisabetta Dejana. 2004. "Endothelial Cell-to-Cell Junctions: Molecular Organization and Role in Vascular Homeostasis." *Physiological Reviews* 84 (3): 869–901. <https://doi.org/10.1152/physrev.00035.2003>.
- Behnoush, Amir Hossein, Amirmohammad Khalaji, Nasim Naderi, Haleh Ashraf, and Stephan von Haehling. 2022. "ACC/AHA/HFSA 2022 and ESC 2021 Guidelines on Heart Failure Comparison." *ESC Heart Failure*, December. <https://doi.org/10.1002/ehf2.14255>.
- Belke, Darrell D., Eric A. Swanson, and Wolfgang H. Dillmann. 2004. "Decreased Sarcoplasmic Reticulum Activity and Contractility in Diabetic Db/Db Mouse Heart." *Diabetes* 53 (12): 3201–8. <https://doi.org/10.2337/diabetes.53.12.3201>.
- Benameur, Tarek, Raffaella Soleti, Chiara Porro, Ramaroson Andriantsitohaina, and Maria Carmen Martínez. 2010. "Microparticles Carrying Sonic Hedgehog Favor Neovascularization through the Activation of Nitric Oxide Pathway in Mice." *PLoS ONE* 5 (9): e12688. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0012688>.
- Benchoula, Khaled, Ishwar S. Parhar, and Eng Hwa Wong. 2021. "The Crosstalk of Hedgehog, PI3K and Wnt Pathways in Diabetes." *Archives of Biochemistry and Biophysics* 698 (February): 108743. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2020.108743>.
- Benjamin, Emelia J., Paul Muntner, Alvaro Alonso, Marcio S. Bittencourt, Clifton W. Callaway, April P. Carson, Alanna M. Chamberlain, et al. 2019. "Heart Disease and Stroke Statistics-2019 Update: A Report From the American Heart Association." *Circulation* 139 (10): e56–528. <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000659>.
- Bergerot, Cyrille, Einar Skulstad Davidsen, Camille Amaz, Hélène Thibault, Mikhail Altman, Amandine Bellaton, Philippe Moulin, Genevi eve Derumeaux, and Laura Ernande. 2018. "Diastolic Function Deterioration in Type 2 Diabetes Mellitus: Predictive Factors over a 3-Year Follow-Up." *European Heart Journal - Cardiovascular Imaging* 19 (1): 67–73. <https://doi.org/10.1093/ehjci/jew331>.
- Bergmann, Olaf, Ratan D. Bhardwaj, Samuel Bernard, Sofia Zdunek, Fanie Barnab e-Heider, Stuart Walsh, Joel Zupicich, et al. 2009. "Evidence for Cardiomyocyte Renewal in Humans." *Science (New York, N.Y.)* 324 (5923): 98–102. <https://doi.org/10.1126/science.1164680>.
- Bergström, A., B. Andersson, M. Edner, E. Nylander, H. Persson, and U. Dahlström. 2004. "Effect of Carvedilol on Diastolic Function in Patients with Diastolic Heart Failure and Preserved Systolic

- Function. Results of the Swedish Doppler-Echocardiographic Study (SWEDIC)." *European Journal of Heart Failure* 6 (4): 453–61. <https://doi.org/10.1016/j.ejheart.2004.02.003>.
- Berman, David M., Sunil S. Karhadkar, Anirban Maitra, Rocio Montes de Oca, Meg R. Gerstenblith, Kimberly Briggs, Antony R. Parker, et al. 2003. "Widespread Requirement for Hedgehog Ligand Stimulation in Growth of Digestive Tract Tumours." *Nature* 425 (6960): 846–51. <https://doi.org/10.1038/nature01972>.
- Bermingham, Margaret, Mary Katherine Shanahan, Eoin O'Connell, Ian Dawkins, Saki Miwa, Rory O'Hanlon, John Gilmer, Kenneth McDonald, and Mark Ledwidge. 2014. "Aspirin Use in Heart Failure." *Circulation: Heart Failure* 7 (2): 243–50. <https://doi.org/10.1161/CIRCHEARTFAILURE.113.000132>.
- Bevan, Graham H., Trevor Jenkins, Richard Josephson, Sanjay Rajagopalan, and Sadeer G. Al-Kindi. 2021. "Endothelin-1 and Peak Oxygen Consumption in Patients with Heart Failure with Preserved Ejection Fraction." *Heart & Lung: The Journal of Critical Care* 50 (3): 442–46. <https://doi.org/10.1016/j.hrtlng.2021.02.004>.
- Bickel, C. A., J. G. Verbalis, M. A. Knepper, and C. A. Ecelbarger. 2001. "Increased Renal Na-K-ATPase, NCC, and Beta-ENaC Abundance in Obese Zucker Rats." *American Journal of Physiology. Renal Physiology* 281 (4): F639-648. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.2001.281.4.F639>.
- Bidasee, Keshore R., Yinong Zhang, Chun Hong Shao, Mu Wang, Kaushik P. Patel, U. Deniz Dincer, and Henry R. Besch. 2004. "Diabetes Increases Formation of Advanced Glycation End Products on Sarco(Endo)Plasmic Reticulum Ca²⁺-ATPase." *Diabetes* 53 (2): 463–73. <https://doi.org/10.2337/diabetes.53.2.463>.
- Biernacka, Anna, and Nikolaos G. Frangogiannis. 2011. "Aging and Cardiac Fibrosis." *Aging and Disease* 2 (2): 158–73.
- Bijlsma, Maarten F., Peter J. A. Leenders, Ben J. A. Janssen, Maikel P. Peppelenbosch, Hugo Ten Cate, and C. Arnold Spek. 2008. "Endogenous Hedgehog Expression Contributes to Myocardial Ischemia-Reperfusion-Induced Injury." *Experimental Biology and Medicine (Maywood, N.J.)* 233 (8): 989–96. <https://doi.org/10.3181/0711-RM-307>.
- Blann, A. D., and M. A. Waite. 1996. "Von Willebrand Factor and Soluble E-Selectin in Hypertension: Influence of Treatment and Value in Predicting the Progression of Atherosclerosis." *Coronary Artery Disease* 7 (2): 143–47. <https://doi.org/10.1097/00019501-199602000-00008>.
- Boden, Guenther, Vijender R. Vaidyula, Carol Homko, Peter Cheung, and A. Koneti Rao. 2007. "Circulating Tissue Factor Procoagulant Activity and Thrombin Generation in Patients with Type 2 Diabetes: Effects of Insulin and Glucose." *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 92 (11): 4352–58. <https://doi.org/10.1210/jc.2007-0933>.
- Boer, Rudolf A. de, Frank Edelmann, Alain Cohen-Solal, Mamas A. Mamas, Alan Maisel, and Burkert Pieske. 2013. "Galectin-3 in Heart Failure with Preserved Ejection Fraction." *European Journal of Heart Failure* 15 (10): 1095–1101. <https://doi.org/10.1093/eurjhf/hft077>.
- Boer, Rudolf A. de, Matthew Naylor, Christopher R. deFilippi, Danielle Enserro, Vijeta Bhambhani, Jorge R. Kizer, Michael J. Blaha, et al. 2018. "Association of Cardiovascular Biomarkers With Incident Heart Failure With Preserved and Reduced Ejection Fraction." *JAMA Cardiology* 3 (3): 215–24. <https://doi.org/10.1001/jamacardio.2017.4987>.
- Bolger, Anthony M., Marc Lohse, and Bjoern Usadel. 2014. "Trimmomatic: A Flexible Trimmer for Illumina Sequence Data." *Bioinformatics (Oxford, England)* 30 (15): 2114–20. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170>.
- Borbély, Attila, Ines Falcao-Pires, Loek van Heerebeek, Nazha Hamdani, István Edes, Cristina Gavina, Adelino F. Leite-Moreira, et al. 2009. "Hypophosphorylation of the Stiff N2B Titin Isoform Raises Cardiomyocyte Resting Tension in Failing Human Myocardium." *Circulation Research* 104 (6): 780–86. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.108.193326>.
- Borghetti, Giulia, Dirk von Lewinski, Deborah M. Eaton, Harald Sourij, Steven R. Houser, and Markus Wallner. 2018. "Diabetic Cardiomyopathy: Current and Future Therapies. Beyond Glycemic Control." *Frontiers in Physiology* 9 (October): 1514. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01514>.

- Borrisoff, Julian I., Ivo A. Joosen, Mathijs O. Versteyleen, Alexander Brill, Tobias A. Fuchs, Alexander S. Savchenko, Maureen Gallant, et al. 2013. "Elevated Levels of Circulating DNA and Chromatin Are Independently Associated with Severe Coronary Atherosclerosis and a Prothrombotic State." *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 33 (8): 2032–40. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.113.301627>.
- Borlaug, Barry A. 2014. "The Pathophysiology of Heart Failure with Preserved Ejection Fraction." *Nature Reviews. Cardiology* 11 (9): 507–15. <https://doi.org/10.1038/nrcardio.2014.83>.
- Borlaug, Barry A., Kevin J. Anstrom, Gregory D. Lewis, Sanjiv J. Shah, James A. Levine, Gabe A. Koepp, Michael M. Givertz, et al. 2018. "Effect of Inorganic Nitrite vs Placebo on Exercise Capacity Among Patients With Heart Failure With Preserved Ejection Fraction: The INDIE-HFpEF Randomized Clinical Trial." *JAMA* 320 (17): 1764–73. <https://doi.org/10.1001/jama.2018.14852>.
- Borlaug, Barry A., Dalane W. Kitzman, Melanie J. Davies, Søren Rasmussen, Eric Barros, Javed Butler, Mette Nygaard Einfeldt, et al. 2023. "Semaglutide in HFpEF across Obesity Class and by Body Weight Reduction: A Prespecified Analysis of the STEP-HFpEF Trial." *Nature Medicine*, August, 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41591-023-02526-x>.
- Borlaug, Barry A., Vojtech Melenovsky, Stuart D. Russell, Kristy Kessler, Karel Pacak, Lewis C. Becker, and David A. Kass. 2006. "Impaired Chronotropic and Vasodilator Reserves Limit Exercise Capacity in Patients with Heart Failure and a Preserved Ejection Fraction." *Circulation* 114 (20): 2138–47. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.632745>.
- Borlaug, Barry A., Thomas P. Olson, Carolyn S. P. Lam, Kelly S. Flood, Amir Lerman, Bruce D. Johnson, and Margaret M. Redfield. 2010. "Global Cardiovascular Reserve Dysfunction in Heart Failure with Preserved Ejection Fraction." *Journal of the American College of Cardiology* 56 (11): 845–54. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2010.03.077>.
- Borlaug, Barry A., and Margaret M. Redfield. 2011. "Diastolic and Systolic Heart Failure Are Distinct Phenotypes Within the Heart Failure Spectrum." *Circulation* 123 (18): 2006–14. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.110.954388>.
- Boulden, Beth M., Julian D. Widder, Jon C. Allen, Debra A. Smith, Ruaa N. Al-Baldawi, David G. Harrison, Sergey I. Dikalov, Hanjoong Jo, and Samuel C. Dudley. 2006. "Early Determinants of H₂O₂-Induced Endothelial Dysfunction." *Free Radical Biology & Medicine* 41 (5): 810–17. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2006.05.030>.
- Brandes, Ralf P. 2014. "Endothelial Dysfunction and Hypertension." *Hypertension* 64 (5): 924–28. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.114.03575>.
- Braune, Julia, Ulrike Weyer, Madlen Matz-Soja, Constance Hobusch, Matthias Kern, Anne Kunath, Nora Klötting, et al. 2017. "Hedgehog Signalling in Myeloid Cells Impacts on Body Weight, Adipose Tissue Inflammation and Glucose Metabolism." *Diabetologia* 60 (5): 889–99. <https://doi.org/10.1007/s00125-017-4223-5>.
- Braune, Steffen, Jan-Heiner Küpper, and Friedrich Jung. 2020. "Effect of Prostanoids on Human Platelet Function: An Overview." *International Journal of Molecular Sciences* 21 (23): 9020. <https://doi.org/10.3390/ijms21239020>.
- Breitenstein, Alexander, Felix C. Tanner, and Thomas F. Lüscher. 2010. "Tissue Factor and Cardiovascular Disease: Quo Vadis?" *Circulation Journal: Official Journal of the Japanese Circulation Society* 74 (1): 3–12. <https://doi.org/10.1253/circj.cj-09-0818>.
- Brette, Fabien, and Clive Orchard. 2003. "T-Tubule Function in Mammalian Cardiac Myocytes." *Circulation Research* 92 (11): 1182–92. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000074908.17214.FD>.
- Briggs, Laura E., Tara A. Burns, Marie M. Lockhart, Aimee L. Phelps, Maurice J.B. Van den Hoff, and Andy Wessels. 2016. "Wnt/ β -Catenin and Sonic Hedgehog Pathways Interact in the Regulation of the Development of the Dorsal Mesenchymal Protrusion." *Developmental Dynamics: An Official Publication of the American Association of Anatomists* 245 (2): 103–13. <https://doi.org/10.1002/dvdy.24339>.

- Brill, A., T.A. Fuchs, A.S. Savchenko, G.M. Thomas, K. Martinod, S.F. De Meyer, A.A. Bhandari, and D.D. Wagner. 2012. "Neutrophil Extracellular Traps Promote Deep Vein Thrombosis in Mice." *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 10 (1): 136–44. <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2011.04544.x>.
- Brouwers, Frank P., Rudolf A. de Boer, Pim van der Harst, Adriaan A. Voors, Ron T. Gansevoort, Stephan J. Bakker, Hans L. Hillege, Dirk J. van Veldhuisen, and Wiek H. van Gilst. 2013. "Incidence and Epidemiology of New Onset Heart Failure with Preserved vs. Reduced Ejection Fraction in a Community-Based Cohort: 11-Year Follow-up of PREVENT." *European Heart Journal* 34 (19): 1424–31. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehs066>.
- Brownell, Isaac, Elizabeth Guevara, C. Brian Bai, Cynthia A. Loomis, and Alexandra L. Joyner. 2011. "Nerve-Derived Sonic Hedgehog Defines a Niche for Hair Follicle Stem Cells Capable of Becoming Epidermal Stem Cells." *Cell Stem Cell* 8 (5): 552–65. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2011.02.021>.
- Brownlee, M., H. Vlassara, and A. Cerami. 1983. "Nonenzymatic Glycosylation Reduces the Susceptibility of Fibrin to Degradation by Plasmin." *Diabetes* 32 (7): 680–84. <https://doi.org/10.2337/diab.32.7.680>.
- Brühl, Marie-Luise von, Konstantin Stark, Alexander Steinhart, Sue Chandraratne, Ildiko Konrad, Michael Lorenz, Alexander Khandoga, et al. 2012. "Monocytes, Neutrophils, and Platelets Cooperate to Initiate and Propagate Venous Thrombosis in Mice in Vivo." *The Journal of Experimental Medicine* 209 (4): 819–35. <https://doi.org/10.1084/jem.20112322>.
- Brunner, Friedrich, Carmen Brás-Silva, Ana Sofia Cerdeira, and Adelino F. Leite-Moreira. 2006. "Cardiovascular Endothelins: Essential Regulators of Cardiovascular Homeostasis." *Pharmacology & Therapeutics* 111 (2): 508–31. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2005.11.001>.
- Buckley, Benjamin J. R., Stephanie L. Harrison, Elnara Fazio-Eynullayeva, Paula Underhill, Rajiv Sankaranarayanan, David J. Wright, Dick H. J. Thijssen, and Gregory Y. H. Lip. 2021. "Cardiac Rehabilitation and All-Cause Mortality in Patients with Heart Failure: A Retrospective Cohort Study." *European Journal of Preventive Cardiology* 28 (15): 1704–10. <https://doi.org/10.1093/eurjpc/zwab035>.
- Bueno-Betí, Carlos, Susana Novella, Raffaella Soletí, Ana Mompeón, Luisa Vergori, Juan Sanchís, Ramarosan Andriantsitohaina, María Carmen Martínez, and Carlos Hermenegildo. 2019. "Microparticles Harboring Sonic Hedgehog Morphogen Improve the Vasculogenesis Capacity of Endothelial Progenitor Cells Derived from Myocardial Infarction Patients." *Cardiovascular Research* 115 (2): 409–18. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvy189>.
- Burgoyne, Joseph R., Héloïse Mongue-Din, Philip Eaton, and Ajay M. Shah. 2012. "Redox Signaling in Cardiac Physiology and Pathology." *Circulation Research* 111 (8): 1091–1106. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.111.255216>.
- Burkhart, Julia M., Stepan Gambaryan, Stephen P. Watson, Kerstin Jurk, Ulrich Walter, Albert Sickmann, Johan W.M. Heemskerk, and René P. Zahedi. 2014. "What Can Proteomics Tell Us About Platelets?" *Circulation Research* 114 (7): 1204–19. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.114.301598>.
- Burns, Jacob A., Rishi Trivedi, Joban Vaishnav, Virginia Hahn, and Kavita Sharma. 2022. "Cystatin C Predicts Adverse Outcomes In Heart Failure With Preserved Ejection Fraction." *Journal of Cardiac Failure*, Abstracts From the Heart Failure Society of America's (HFSA) Annual Scientific Meeting 2021, 28 (5, Supplement): S80–81. <https://doi.org/10.1016/j.cardfail.2022.03.203>.
- Busse, R., and I. Fleming. 2006. "Vascular Endothelium and Blood Flow." In *The Vascular Endothelium II*, edited by Salvador Moncada and Annie Higgs, 43–78. Handbook of Experimental Pharmacology. Berlin, Heidelberg: Springer. https://doi.org/10.1007/3-540-36028-X_2.
- Busse, Rudi, Gillian Edwards, Michel Félétou, Ingrid Fleming, Paul M. Vanhoutte, and Arthur H. Weston. 2002. "EDHF: Bringing the Concepts Together." *Trends in Pharmacological Sciences* 23 (8): 374–80. [https://doi.org/10.1016/s0165-6147\(02\)02050-3](https://doi.org/10.1016/s0165-6147(02)02050-3).

- Butcher, E. C. 1991. "Leukocyte-Endothelial Cell Recognition: Three (or More) Steps to Specificity and Diversity." *Cell* 67 (6): 1033–36. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(91\)90279-8](https://doi.org/10.1016/0092-8674(91)90279-8).
- Cahill, Paul A., and Eileen M. Redmond. 2016. "Vascular Endothelium – Gatekeeper of Vessel Health." *Atherosclerosis* 248 (May): 97–109. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2016.03.007>.
- Cai, Hua, Zongming Li, Andreas Goette, Fernando Mera, Clegg Honeycutt, Kristian Feterik, Josiah N. Wilcox, Samuel C. Dudley, David G. Harrison, and Jonathan J. Langberg. 2002. "Downregulation of Endocardial Nitric Oxide Synthase Expression and Nitric Oxide Production in Atrial Fibrillation: Potential Mechanisms for Atrial Thrombosis and Stroke." *Circulation* 106 (22): 2854–58. <https://doi.org/10.1161/01.cir.0000039327.11661.16>.
- Calcutt, N. A., K. L. Allendoerfer, A. P. Mizisin, A. Middlemas, J. D. Freshwater, M. Burgers, R. Ranciato, et al. 2003a. "Therapeutic Efficacy of Sonic Hedgehog Protein in Experimental Diabetic Neuropathy." *J Clin Invest* 111 (4): 507–14.
- Calvert, John W., and David J. Lefer. 2012. "Chapter 6 - Overview of Cardiac Muscle Physiology." In *Muscle*, edited by Joseph A. Hill and Eric N. Olson, 57–66. Boston/Waltham: Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381510-1.00006-5>.
- Campbell, Ross T., Pardeep S. Jhund, Davide Castagno, Nathaniel M. Hawkins, Mark C. Petrie, and John J. V. McMurray. 2012. "What Have We Learned about Patients with Heart Failure and Preserved Ejection Fraction from DIG-PEF, CHARM-Preserved, and I-PRESERVE?" *Journal of the American College of Cardiology* 60 (23): 2349–56. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2012.04.064>.
- Cao, Nga, Yung George Wong, Sarah Rosli, Helen Kiriazis, Karina Huynh, Chengxue Qin, Xiao-Jun Du, Barbara K. Kemp-Harper, and Rebecca H. Ritchie. 2015. "Chronic Administration of the Nitroxyl Donor 1-Nitrosocyclo Hexyl Acetate Limits Left Ventricular Diastolic Dysfunction in a Mouse Model of Diabetes Mellitus in Vivo." *Circulation. Heart Failure* 8 (3): 572–81. <https://doi.org/10.1161/CIRCHEARTFAILURE.114.001699>.
- Cao, Yu, Yan Wang, Ling Xiao, Jia-Ying Xu, Ying Liu, Rui Jiang, Tao Li, and Jun Jiang. 2021. "Endothelial-Derived Exosomes Induced by Lipopolysaccharide Alleviate Rat Cardiomyocytes Injury and Apoptosis." *American Journal of Translational Research* 13 (3): 1432–44.
- Caradu, Caroline, Thierry Couffinhal, Candice Chapouly, Sarah Guimbal, Pierre-Louis Hollier, Eric Ducasse, Alessandra Bura-Rivière, Mathilde Dubois, Alain-Pierre Gadeau, and Marie-Ange Renault. 2018a. "Restoring Endothelial Function by Targeting Desert Hedgehog Downstream of Klf2 Improves Critical Limb Ischemia in Adults." *Circulation Research* 123 (9): 1053–65. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.118.313177>.
- Caradu, Caroline, Alexandre Guy, Chloé James, Annabel Reynaud, Alain-Pierre Gadeau, and Marie-Ange Renault. 2018. "Endogenous Sonic Hedgehog Limits Inflammation and Angiogenesis in the Ischaemic Skeletal Muscle of Mice." *Cardiovascular Research* 114 (5): 759–70. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvy017>.
- Carbe, Christian J., Lan Cheng, Sankar Addya, Jessica I. Gold, Erhe Gao, Walter J. Koch, and Natalia A. Riobo. 2014. "Gi Proteins Mediate Activation of the Canonical Hedgehog Pathway in the Myocardium." *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology* 307 (1): H66–72. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00166.2014>.
- Carbone, Salvatore, Hayley Billingsley, Hannah Salmons, Syed Imran Ahmed, Ryan A Harris, Antonio Abbate, Mathew Maurer, Scott Hummel, and Paula Rodriguez Miguez. 2023. "Sirtuin-1 Is Reduced In Patients With Heart Failure With Preserved Ejection Fraction And Can Be Modulated By Dietary Interventions." *Journal of Cardiac Failure* 29 (4): 566. <https://doi.org/10.1016/j.cardfail.2022.10.052>.
- Carbone, Salvatore, Justin M. Canada, Leo F. Buckley, Cory R. Trankle, Dave L. Dixon, Raffaella Buzzetti, Ross Arena, Tassell Benjamin W. Van, and Antonio Abbate. 2016. "Obesity Contributes to Exercise Intolerance in Heart Failure With Preserved Ejection Fraction." *Journal of the American College of Cardiology* 68 (22): 2487–88. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2016.08.072>.
- Carnicer, Ricardo, Mark J. Crabtree, Vidhya Sivakumaran, Barbara Casadei, and David A. Kass. 2013. "Nitric Oxide Synthases in Heart Failure." *Antioxidants & Redox Signaling* 18 (9): 1078–99. <https://doi.org/10.1089/ars.2012.4824>.

- Carrick-Ranson, Graeme, Jeffrey L. Hastings, Paul S. Bhella, Shigeki Shibata, Naoki Fujimoto, M. Dean Palmer, Kara Boyd, and Benjamin D. Levine. 2012. "Effect of Healthy Aging on Left Ventricular Relaxation and Diastolic Suction." *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology* 303 (3): H315-322. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00142.2012>.
- Cazorla, Olivier, Yiming Wu, Thomas C. Irving, and Henk Granzier. 2001. "Titin-Based Modulation of Calcium Sensitivity of Active Tension in Mouse Skinned Cardiac Myocytes." *Circulation Research* 88 (10): 1028–35. <https://doi.org/10.1161/hh1001.090876>.
- Celi, A, G Pellegrini, R Lorenzet, A De Blasi, N Ready, B C Furie, and B Furie. 1994. "P-Selectin Induces the Expression of Tissue Factor on Monocytes." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 91 (19): 8767–71.
- Celi, Alessandro, Silvana Cianchetti, Giulia Dell’Omo, and Roberto Pedrinelli. 2010. "Angiotensin II, Tissue Factor and the Thrombotic Paradox of Hypertension." *Expert Review of Cardiovascular Therapy* 8 (12): 1723–29. <https://doi.org/10.1586/erc.10.161>.
- Cereijido, Marcelino, and James M. Anderson. 2001. *Tight Junctions*. CRC Press.
- Chamberlain, Alanna M., Bernard J. Gersh, Alvaro Alonso, Stephen L. Kopecky, Jill M. Killian, Susan A. Weston, and Véronique L. Roger. 2017. "No Decline in the Risk of Heart Failure after Incident Atrial Fibrillation: A Community Study Assessing Trends Overall and by Ejection Fraction." *Heart Rhythm* 14 (6): 791–98. <https://doi.org/10.1016/j.hrthm.2017.01.031>.
- Chan, Michelle M.Y., and Carolyn S.P. Lam. 2013. "How Do Patients with Heart Failure with Preserved Ejection Fraction Die?" *European Journal of Heart Failure* 15 (6): 604–13. <https://doi.org/10.1093/eurjhf/hft062>.
- Chapouly, Candice, Sarah Guimbal, Pierre-Louis Hollier, and Marie-Ange Renault. 2019. "Role of Hedgehog Signaling in Vasculature Development, Differentiation, and Maintenance." *International Journal of Molecular Sciences* 20 (12): E3076. <https://doi.org/10.3390/ijms20123076>.
- Chapouly, Candice, Pierre-Louis Hollier, Sarah Guimbal, Lauriane Cornuault, Alain-Pierre Gadeau, and Marie-Ange Renault. 2020a. "Desert Hedgehog-Driven Endothelium Integrity Is Enhanced by Gas1 (Growth Arrest-Specific 1) but Negatively Regulated by Cdon (Cell Adhesion Molecule-Related/Downregulated by Oncogenes)." *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 40 (12): e336–49. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.120.314441>.
- Chapouly, Candice, Qinyu Yao, Soizic Vandierdonck, Frederic Larrieu-Lahargue, John N. Mariani, Alain-Pierre Gadeau, and Marie-Ange Renault. 2016. "Impaired Hedgehog Signalling-Induced Endothelial Dysfunction Is Sufficient to Induce Neuropathy: Implication in Diabetes." *Cardiovascular Research* 109 (2): 217–27. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvv263>.
- Charles, Elcha, Benjamin L. Dumont, Steven Bonneau, Paul-Eduard Neagoe, Louis Villeneuve, Agnès Räkel, Michel White, and Martin G. Sirois. 2021. "Angiopoietin 1 Release from Human Neutrophils Is Independent from Neutrophil Extracellular Traps (NETs)." *BMC Immunology* 22 (1): 51. <https://doi.org/10.1186/s12865-021-00442-8>.
- Chauhan, Anil K., Janka Kisucka, Alexander Brill, Meghan T. Walsh, Friedrich Scheiflinger, and Denisa D. Wagner. 2008. "ADAMTS13: A New Link between Thrombosis and Inflammation." *The Journal of Experimental Medicine* 205 (9): 2065–74. <https://doi.org/10.1084/jem.20080130>.
- Chavakis, Emmanouil, Eun Choi, and Triantafyllos Chavakis. 2009. "Novel Aspects in the Regulation of the Leukocyte Adhesion Cascade." *Thrombosis and Haemostasis* 102 (08): 191–97. <https://doi.org/10.1160/TH08-12-0844>.
- Chechneva, O. V., F. Mayrhofer, D. J. Daugherty, R. G. Krishnamurty, P. Bannerman, D. E. Pleasure, and W. Deng. 2014. "A Smoothened Receptor Agonist Is Neuroprotective and Promotes Regeneration after Ischemic Brain Injury." *Cell Death & Disease* 5 (10): e1481. <https://doi.org/10.1038/cddis.2014.446>.
- Chen, Miao-Hsueh, Christopher W. Wilson, Ya-Jun Li, Kelvin King Lo Law, Chi-Sheng Lu, Rhodora Gacayan, Xiaoyun Zhang, Chi-chung Hui, and Pao-Tien Chuang. 2009. "Cilium-Independent Regulation of Gli Protein Function by Sufu in Hedgehog Signaling Is Evolutionarily Conserved." *Genes & Development* 23 (16): 1910–28. <https://doi.org/10.1101/gad.1794109>.

- Chen, Peter P., Jitandrakumar R. Patel, Inna N. Rybakova, Jeffery W. Walker, and Richard L. Moss. 2010. "Protein Kinase A-Induced Myofilament Desensitization to Ca²⁺ as a Result of Phosphorylation of Cardiac Myosin-Binding Protein C." *The Journal of General Physiology* 136 (6): 615–27. <https://doi.org/10.1085/jgp.201010448>.
- Cheng, Lan, Moza Al-Owais, Manuel L. Covarrubias, Walter J. Koch, David R. Manning, Chris Peers, and Natalia A. Riobo-Del Galdo. 2018. "Coupling of Smoothed to Inhibitory G Proteins Reduces Voltage-Gated K⁺ Currents in Cardiomyocytes and Prolongs Cardiac Action Potential Duration." *The Journal of Biological Chemistry* 293 (28): 11022–32. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA118.001989>.
- Cheng, Richard K., Margueritte Cox, Megan L. Neely, Paul A. Heidenreich, Deepak L. Bhatt, Zubin J. Eapen, Adrian F. Hernandez, Javed Butler, Clyde W. Yancy, and Gregg C. Fonarow. 2014. "Outcomes in Patients with Heart Failure with Preserved, Borderline, and Reduced Ejection Fraction in the Medicare Population." *American Heart Journal* 168 (5): 721–30. <https://doi.org/10.1016/j.ahj.2014.07.008>.
- Cheng, Wei, Pingping Yu, Li Wang, Changbo Shen, Xiaosong Song, Jixiang Chen, Fanren Tang, and Qin Yang. 2015. "Sonic Hedgehog Signaling Mediates Resveratrol to Increase Proliferation of Neural Stem Cells after Oxygen-Glucose Deprivation/Reoxygenation Injury in Vitro." *Cellular Physiology and Biochemistry: International Journal of Experimental Cellular Physiology, Biochemistry, and Pharmacology* 35 (5): 2019–32. <https://doi.org/10.1159/000374009>.
- Cherian, Sam, Gary D. Lopaschuk, and Eugenia Carvalho. 2012. "Cellular Cross-Talk between Epicardial Adipose Tissue and Myocardium in Relation to the Pathogenesis of Cardiovascular Disease." *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 303 (8): E937–49. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00061.2012>.
- Chia, Yook Chin, Lyanne M. Kieneker, Gaston van Hassel, S. Heleen Binnenmars, Ilja M. Nolte, Jelmer J. van Zanden, Peter van der Meer, et al. 2021. "Interleukin 6 and Development of Heart Failure With Preserved Ejection Fraction in the General Population." *Journal of the American Heart Association* 10 (11): e018549. <https://doi.org/10.1161/JAHA.120.018549>.
- Chinchilla, Pilar, Liqing Xiao, Marcelo G. Kazanietz, and Natalia A. Riobo. 2010. "Hedgehog Proteins Activate Pro-Angiogenic Responses in Endothelial Cells through Non-Canonical Signaling Pathways." *Cell Cycle (Georgetown, Tex.)* 9 (3): 570–79. <https://doi.org/10.4161/cc.9.3.10591>.
- Chirinos, Julio A., Alena Orlenko, Lei Zhao, Michael D. Basso, Mary Ellen Cvijic, Zhuyin Li, Thomas E. Spires, et al. 2020. "Multiple Plasma Biomarkers for Risk Stratification in Patients With Heart Failure and Preserved Ejection Fraction." *Journal of the American College of Cardiology* 75 (11): 1281–95. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2019.12.069>.
- Chou, T. C., M. H. Yen, C. Y. Li, and Y. A. Ding. 1998. "Alterations of Nitric Oxide Synthase Expression with Aging and Hypertension in Rats." *Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)* 31 (2): 643–48. <https://doi.org/10.1161/01.hyp.31.2.643>.
- Christ, George J., David C. Spray, Marwan El-Sabban, Lisa K. Moore, and Peter R. Brink. 1996. "Gap Junctions in Vascular Tissues." *Circulation Research* 79 (4): 631–46. <https://doi.org/10.1161/01.RES.79.4.631>.
- Chuang, P. T., and A. P. McMahon. 1999. "Vertebrate Hedgehog Signalling Modulated by Induction of a Hedgehog-Binding Protein." *Nature* 397 (6720): 617–21. <https://doi.org/10.1038/17611>.
- Chuang, Pao-Tien, T'Nay Kawcak, and Andrew P. McMahon. 2003. "Feedback Control of Mammalian Hedgehog Signaling by the Hedgehog-Binding Protein, Hip1, Modulates Fgf Signaling during Branching Morphogenesis of the Lung." *Genes & Development* 17 (3): 342–47. <https://doi.org/10.1101/gad.1026303>.
- Claesson-Welsh, Lena, Elisabetta Dejana, and Donald M. McDonald. 2021. "Permeability of the Endothelial Barrier: Identifying and Reconciling Controversies." *Trends in Molecular Medicine* 27 (4): 314–31. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2020.11.006>.
- Cleland, J. G. F., I. Findlay, S. Jafri, G. Sutton, R. Falk, C. Bulpitt, C. Prentice, I. Ford, Adele Trainer, and P. A. Poole-Wilson. 2004. "The Warfarin/Aspirin Study in Heart Failure (WASH): A Randomized

- Trial Comparing Antithrombotic Strategies for Patients with Heart Failure.” *American Heart Journal* 148 (1): 157–64. <https://doi.org/10.1016/j.ahj.2004.03.010>.
- Cleland, John G. F., Michal Tendera, Jerzy Adamus, Nick Freemantle, Lech Polonski, Jacqueline Taylor, and PEP-CHF Investigators. 2006. “The Perindopril in Elderly People with Chronic Heart Failure (PEP-CHF) Study.” *European Heart Journal* 27 (19): 2338–45. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehl250>.
- Cohen, Charles D., Miles J. De Blasio, Man K. S. Lee, Gabriella E. Farrugia, Darnel Prakoso, Crisdion Krstevski, Minh Deo, et al. 2021. “Diastolic Dysfunction in a Pre-Clinical Model of Diabetes Is Associated with Changes in the Cardiac Non-Myocyte Cellular Composition.” *Cardiovascular Diabetology* 20 (1): 116. <https://doi.org/10.1186/s12933-021-01303-9>.
- Cohen, Jordana B., Sarah J. Schrauben, Lei Zhao, Michael D. Basso, Mary Ellen Cvijic, Zhuyin Li, Melissa Yarde, et al. 2020. “Clinical Phenogroups in Heart Failure with Preserved Ejection Fraction: Detailed Phenotypes, Prognosis and Response to Spironolactone.” *JACC. Heart Failure* 8 (3): 172–84. <https://doi.org/10.1016/j.jchf.2019.09.009>.
- Cohen, Neale D., Sarah J. Gutman, Esther M. Briganti, and Andrew J. Taylor. 2019. “Effects of Empagliflozin Treatment on Cardiac Function and Structure in Patients with Type 2 Diabetes: A Cardiac Magnetic Resonance Study.” *Internal Medicine Journal* 49 (8): 1006–10. <https://doi.org/10.1111/imj.14260>.
- Cohen, Zoë, Raoul F. Gonzales, Grace F. Davis-Gorman, Jack G. Copeland, and Paul F. McDonagh. 2002. “Thrombin Activity and Platelet Microparticle Formation Are Increased in Type 2 Diabetic Platelets: A Potential Correlation with Caspase Activation.” *Thrombosis Research* 107 (5): 217–21. [https://doi.org/10.1016/S0049-3848\(02\)00334-1](https://doi.org/10.1016/S0049-3848(02)00334-1).
- Cokkinos, Dennis V., George C. Haralabopoulos, John B. Kostis, Pavlos K. Toutouzas, and HELAS investigators. 2006. “Efficacy of Antithrombotic Therapy in Chronic Heart Failure: The HELAS Study.” *European Journal of Heart Failure* 8 (4): 428–32. <https://doi.org/10.1016/j.ejheart.2006.02.012>.
- Collier, Patrick, Chris J. Watson, Victor Voon, Dermot Phelan, Aftab Jan, George Mak, Ramon Martos, John A. Baugh, Mark T. Ledwidge, and Kenneth M. McDonald. 2011. “Can Emerging Biomarkers of Myocardial Remodelling Identify Asymptomatic Hypertensive Patients at Risk for Diastolic Dysfunction and Diastolic Heart Failure?” *European Journal of Heart Failure* 13 (10): 1087–95. <https://doi.org/10.1093/eurjhf/hfr079>.
- Concas, V., S. Laurent, A. M. Brisac, C. Perret, and M. Safar. 1989. “Endothelin Has Potent Direct Inotropic and Chronotropic Effects in Cultured Heart Cells.” *Journal of Hypertension. Supplement: Official Journal of the International Society of Hypertension* 7 (6): S96-97. <https://doi.org/10.1097/00004872-198900076-00044>.
- Conraads, Viviane M., Marco Metra, Otto Kamp, Gilles W. De Keulenaer, Burkert Pieske, José Zamorano, Panos E. Vardas, Michael Böhm, and Livio Dei Cas. 2012. “Effects of the Long-Term Administration of Nebivolol on the Clinical Symptoms, Exercise Capacity, and Left Ventricular Function of Patients with Diastolic Dysfunction: Results of the ELANDD Study.” *European Journal of Heart Failure* 14 (2): 219–25. <https://doi.org/10.1093/eurjhf/hfr161>.
- Conti, Valeria, Graziamaria Corbi, Maria Vincenza Polito, Michele Ciccarelli, Valentina Manzo, Martina Torsiello, Emanuela De Bellis, et al. 2020. “Sirt1 Activity in PBMCs as a Biomarker of Different Heart Failure Phenotypes.” *Biomolecules* 10 (11): 1590. <https://doi.org/10.3390/biom10111590>.
- Copeland, O’Neal, Kristen J. Nowak, Nigel G. Laing, Gianina Ravenscroft, Andrew E. Messer, Christopher R. Bayliss, and Steven B. Marston. 2010. “Investigation of Changes in Skeletal Muscle Alpha-Actin Expression in Normal and Pathological Human and Mouse Hearts.” *Journal of Muscle Research and Cell Motility* 31 (3): 207–14. <https://doi.org/10.1007/s10974-010-9224-7>.
- Coppens, Michiel, John W. Eikelboom, Robert G. Hart, Salim Yusuf, Gregory Y.H. Lip, Paul Dorian, Olga Shestakovska, and Stuart J. Connolly. 2013. “The CHA2DS2-VASc Score Identifies Those Patients with Atrial Fibrillation and a CHADS2 Score of 1 Who Are Unlikely to Benefit from Oral

- Anticoagulant Therapy." *European Heart Journal* 34 (3): 170–76. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehs314>.
- Coppola, Raffaella, Daniela Mari, Antonella Lattuada, and Claudio Franceschi. 2003. "Von Willebrand Factor in Italian Centenarians." *Haematologica* 88 (1): 39–43.
- Cornuault, Lauriane, Paul Rouault, Cécile Dupl a, Thierry Couffinhal, and Marie-Ange Renault. 2022a. "Endothelial Dysfunction in Heart Failure With Preserved Ejection Fraction: What Are the Experimental Proofs?" *Frontiers in Physiology* 13: 906272. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.906272>.
- Cotton, J. M., M. T. Kearney, P. A. MacCarthy, R. M. Grocott-Mason, D. R. McClean, C. Heymes, P. J. Richardson, and A. M. Shah. 2001. "Effects of Nitric Oxide Synthase Inhibition on Basal Function and the Force-Frequency Relationship in the Normal and Failing Human Heart in Vivo." *Circulation* 104 (19): 2318–23. <https://doi.org/10.1161/hc4401.098515>.
- Coughlin, S. R. 2000. "Thrombin Signalling and Protease-Activated Receptors." *Nature* 407 (6801): 258–64. <https://doi.org/10.1038/35025229>.
- Crocini, Claudia, and Michael Gotthardt. 2021. "Cardiac Sarcomere Mechanics in Health and Disease." *Biophysical Reviews* 13 (5): 637–52. <https://doi.org/10.1007/s12551-021-00840-7>.
- Cruz, Dinna N., Ching Yan Goh, Anja Haase-Fielitz, Claudio Ronco, and Michael Haase. 2010. "Early Biomarkers of Renal Injury." *Congestive Heart Failure* 16 (s1): S25–31. <https://doi.org/10.1111/j.1751-7133.2010.00163.x>.
- Curl, Claire L., Vennetia R. Danes, James R. Bell, Antonia J. A. Raaijmakers, Wendy T. K. Ip, Chanchal Chandramouli, Tristan W. Harding, et al. 2018. "Cardiomyocyte Functional Etiology in Heart Failure With Preserved Ejection Fraction Is Distinctive—A New Preclinical Model." *Journal of the American Heart Association* 7 (11): e007451. <https://doi.org/10.1161/JAHA.117.007451>.
- Curran, Fraser M., U. Bhalraam, Mohapradeep Mohan, Jagdeep S. Singh, Stefan D. Anker, Kenneth Dickstein, Alexander S. Doney, et al. 2021. "Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio and Outcomes in Patients with New-Onset or Worsening Heart Failure with Reduced and Preserved Ejection Fraction." *ESC Heart Failure* 8 (4): 3168–79. <https://doi.org/10.1002/ehf2.13424>.
- Cushman, Mary, Bruce M. Psaty, Elizabeth Macy, Edwin G. Bovill, Elaine S. Cornell, Lewis H. Kuller, and Russell P. Tracy. 1996. "Correlates of Thrombin Markers in an Elderly Cohort Free of Clinical Cardiovascular Disease." *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 16 (9): 1163–69. <https://doi.org/10.1161/01.ATV.16.9.1163>.
- Dahlen, Bianca, Andreas Schulz, Sebastian Göbel, Sven-Oliver Tr obs, S oren Schwuchow-Thonke, Henri M. Spronk, Jürgen H. Prochaska, et al. 2021. "The Impact of Platelet Indices on Clinical Outcome in Heart Failure: Results from the MyoVasc Study." *ESC Heart Failure* 8 (4): 2991–3001. <https://doi.org/10.1002/ehf2.13390>.
- Dahmane, N., and A. Ruiz i Altaba. 1999. "Sonic Hedgehog Regulates the Growth and Patterning of the Cerebellum." *Development (Cambridge, England)* 126 (14): 3089–3100. <https://doi.org/10.1242/dev.126.14.3089>.
- Dahmane, N., P. Sánchez, Y. Gitton, V. Palma, T. Sun, M. Beyna, H. Weiner, and A. Ruiz i Altaba. 2001. "The Sonic Hedgehog-Gli Pathway Regulates Dorsal Brain Growth and Tumorigenesis." *Development (Cambridge, England)* 128 (24): 5201–12. <https://doi.org/10.1242/dev.128.24.5201>.
- Dai, Zhiyu, Jianding Cheng, Bin Liu, Dan Yi, Anlin Feng, Ting Wang, Lingling An, et al. 2021. "Loss of Endothelial Hypoxia Inducible Factor-Prolyl Hydroxylase 2 Induces Cardiac Hypertrophy and Fibrosis." *Journal of the American Heart Association* 10 (22): e022077. <https://doi.org/10.1161/JAHA.121.022077>.
- Datta, S., and M. W. Datta. 2006. "Sonic Hedgehog Signaling in Advanced Prostate Cancer." *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS* 63 (4): 435–48. <https://doi.org/10.1007/s00018-005-5389-4>.
- Dauriz, Marco, Alessandro Mantovani, Stefano Bonapace, Giuseppe Verlato, Giacomo Zoppini, Enzo Bonora, and Giovanni Targher. 2017. "Prognostic Impact of Diabetes on Long-Term Survival

- Outcomes in Patients With Heart Failure: A Meta-Analysis." *Diabetes Care* 40 (11): 1597–1605. <https://doi.org/10.2337/dc17-0697>.
- Davis, B. R., T. Vogt, P. H. Frost, A. Burlando, J. Cohen, A. Wilson, L. M. Brass, W. Frishman, T. Price, and J. Stamler. 1998. "Risk Factors for Stroke and Type of Stroke in Persons with Isolated Systolic Hypertension. Systolic Hypertension in the Elderly Program Cooperative Research Group." *Stroke* 29 (7): 1333–40. <https://doi.org/10.1161/01.str.29.7.1333>.
- De Pergola, G., V. De Mitrio, F. Giorgino, M. Sciaraffia, A. Minenna, L. Di Bari, N. Pannacciulli, and R. Giorgino. 1997. "Increase in Both Pro-Thrombotic and Anti-Thrombotic Factors in Obese Premenopausal Women: Relationship with Body Fat Distribution." *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders: Journal of the International Association for the Study of Obesity* 21 (7): 527–35. <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0800435>.
- De Pergola, G., and N. Pannacciulli. 2002. "Coagulation and Fibrinolysis Abnormalities in Obesity." *Journal of Endocrinological Investigation* 25 (10): 899–904. <https://doi.org/10.1007/BF03344054>.
- De Simone, Giovanni, Richard B. Devereux, Marcello Chinali, Mary J. Roman, Ana Barac, Julio A. Panza, Elisa T. Lee, and Barbara V. Howard. 2011. "Sex Differences in Obesity-Related Changes in Left Ventricular Morphology: The Strong Heart Study." *Journal of Hypertension* 29 (7): 1431–38. <https://doi.org/10.1097/HJH.0b013e328347a093>.
- Deaglio, Silvia, and Simon C. Robson. 2011. "Ectonucleotidases as Regulators of Purinergic Signaling in Thrombosis, Inflammation, and Immunity." *Advances in Pharmacology (San Diego, Calif.)* 61: 301–32. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385526-8.00010-2>.
- Dejana, E., M. Corada, and M. G. Lampugnani. 1995. "Endothelial Cell-to-Cell Junctions." *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 9 (10): 910–18.
- Dejana, Elisabetta, Fabrizio Orsenigo, and Maria Grazia Lampugnani. 2008. "The Role of Adherens Junctions and VE-Cadherin in the Control of Vascular Permeability." *Journal of Cell Science* 121 (13): 2115–22. <https://doi.org/10.1242/jcs.017897>.
- Dembinski, Jennifer L., and Stefan Krauss. 2009. "Characterization and Functional Analysis of a Slow Cycling Stem Cell-like Subpopulation in Pancreas Adenocarcinoma." *Clinical & Experimental Metastasis* 26 (7): 611–23. <https://doi.org/10.1007/s10585-009-9260-0>.
- DeSouza, C. A., P. P. Jones, and D. R. Seals. 1998. "Physical Activity Status and Adverse Age-Related Differences in Coagulation and Fibrinolytic Factors in Women." *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 18 (3): 362–68. <https://doi.org/10.1161/01.atv.18.3.362>.
- DeSouza, C. A., L. F. Shapiro, C. M. Clevenger, F. A. Dinunno, K. D. Monahan, H. Tanaka, and D. R. Seals. 2000. "Regular Aerobic Exercise Prevents and Restores Age-Related Declines in Endothelium-Dependent Vasodilation in Healthy Men." *Circulation* 102 (12): 1351–57. <https://doi.org/10.1161/01.cir.102.12.1351>.
- Deswal, Anita, Peter Richardson, Biykem Bozkurt, and Douglas L. Mann. 2011. "Results of the Randomized Aldosterone Antagonism in Heart Failure with Preserved Ejection Fraction Trial (RAAM-PEF)." *Journal of Cardiac Failure* 17 (8): 634–42. <https://doi.org/10.1016/j.cardfail.2011.04.007>.
- Dhingra, Abhinav, Aayushi Garg, Simrat Kaur, Saurav Chopra, Jaspreet Singh Batra, Ambarish Pandey, Antoine H. Chaanine, and Sunil K. Agarwal. 2014. "Epidemiology of Heart Failure with Preserved Ejection Fraction." *Current Heart Failure Reports* 11 (4): 354–65. <https://doi.org/10.1007/s11897-014-0223-7>.
- Dhot, Justine, Ferron M, Prat V, Persello A, Roul D, Stévant D, Guijarro D, et al. 2020. "Overexpression of Endothelial β 3 -Adrenergic Receptor Induces Diastolic Dysfunction in Rats." *ESC Heart Failure* 7 (6). <https://doi.org/10.1002/ehf2.13040>.
- Diagbouga, Mannekomba R, Sandrine Morel, Anne F Cayron, Julien Haemmerli, Marc Georges, Beerend P Hierck, Eric Allémann, Sylvain Lemeille, Philippe Bijlenga, and Brenda R Kwak. 2022. "Primary Cilia Control Endothelial Permeability by Regulating Expression and Location of

- Junction Proteins." *Cardiovascular Research* 118 (6): 1583–96. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvab165>.
- Dielis, Arne W.J.H., Machiel Smid, Henri M.H. Spronk, Karly Hamulyak, Abraham A. Kroon, Hugo ten Cate, and Peter W. de Leeuw. 2005. "The Prothrombotic Paradox of Hypertension." *Hypertension* 46 (6): 1236–42. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000193538.20705.23>.
- Ding, Wern Yew, Dhiraj Gupta, and Gregory Y H Lip. 2020. "Atrial Fibrillation and the Prothrombotic State: Revisiting Virchow's Triad in 2020." *Heart* 106 (19): 1463–68. <https://doi.org/10.1136/heartjnl-2020-316977>.
- Divo, Miguel J., Carlos H. Martinez, and David M. Mannino. 2014. "Ageing and the Epidemiology of Multimorbidity." *The European Respiratory Journal* 44 (4): 1055–68. <https://doi.org/10.1183/09031936.00059814>.
- Dixit, Gunjan, John Blair, and Cevher Ozcan. 2022. "Plasma Proteomic Analysis of Association between Atrial Fibrillation, Coronary Microvascular Disease and Heart Failure." *American Journal of Cardiovascular Disease* 12 (2): 81–91.
- Dobin, Alexander, Carrie A. Davis, Felix Schlesinger, Jorg Drenkow, Chris Zaleski, Sonali Jha, Philippe Batut, Mark Chaisson, and Thomas R. Gingeras. 2013. "STAR: Ultrafast Universal RNA-Seq Aligner." *Bioinformatics (Oxford, England)* 29 (1): 15–21. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts635>.
- Dobrowolski, Radoslaw, Gerda Hertig, Hildegard Lechner, Philipp Wörsdörfer, Volker Wulf, Nikolai Dicke, Dawid Eckert, Reinhard Bauer, Hubert Schorle, and Klaus Willecke. 2009. "Loss of Connexin43-Mediated Gap Junctional Coupling in the Mesenchyme of Limb Buds Leads to Altered Expression of Morphogens in Mice." *Human Molecular Genetics* 18 (15): 2899–2911. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddp227>.
- Donaldson, Cameron, Bradley M. Palmer, Michael Zile, David W. Maughan, John S. Ikonomidis, Henk Granzier, Markus Meyer, Peter VanBuren, and Martin M. LeWinter. 2012. "Myosin Cross-Bridge Dynamics in Patients With Hypertension and Concentric Left Ventricular Remodeling." *Circulation. Heart Failure* 5 (6): 803–11. <https://doi.org/10.1161/CIRCHEARTFAILURE.112.968925>.
- Dongaonkar, Ranjeet M., Randolph H. Stewart, Hans J. Geissler, and Glen A. Laine. 2010. "Myocardial Microvascular Permeability, Interstitial Oedema, and Compromised Cardiac Function." *Cardiovascular Research* 87 (2): 331–39. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvq145>.
- Downing, L. J., R. M. Strieter, A. M. Kadell, C. A. Wilke, S. L. Brown, S. K. Wroblewski, M. D. Burdick, et al. 1996. "Neutrophils Are the Initial Cell Type Identified in Deep Venous Thrombosis Induced Vein Wall Inflammation." *ASAIO Journal (American Society for Artificial Internal Organs: 1992)* 42 (5): M677-682. <https://doi.org/10.1097/00002480-199609000-00073>.
- Driesen, Ronald B., Fons K. Verheyen, Wiel Debie, Erik Blaauw, Fawzi A. Babiker, Richard N.M. Cornelussen, Jannie Ausma, et al. 2009. "Re-Expression of Alpha Skeletal Actin as a Marker for Dedifferentiation in Cardiac Pathologies." *Journal of Cellular and Molecular Medicine* 13 (5): 896–908. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2008.00523.x>.
- Dubois-Deruy, Emilie, Victoriane Peugnet, Annie Turkieh, and Florence Pinet. 2020. "Oxidative Stress in Cardiovascular Diseases." *Antioxidants* 9 (9): 864. <https://doi.org/10.3390/antiox9090864>.
- DuBrock, Hilary M., Omar F. AbouEzzedine, and Margaret M. Redfield. 2018. "High-Sensitivity C-Reactive Protein in Heart Failure with Preserved Ejection Fraction." *PLoS ONE* 13 (8): e0201836. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201836>.
- Duca, Franz, Andreas A. Kammerlander, Caroline Zotter-Tufaro, Stefan Aschauer, Marianne L. Schwaiger, Beatrice A. Marzluf, Diana Bonderman, and Julia Mascherbauer. 2016. "Interstitial Fibrosis, Functional Status, and Outcomes in Heart Failure With Preserved Ejection Fraction." *Circulation: Cardiovascular Imaging* 9 (12): e005277. <https://doi.org/10.1161/CIRCIMAGING.116.005277>.
- Dugaucquier, Lindsey, Eline Feyen, Ligia Mateiu, Tine Anne Marie Bruyns, Gilles W. De Keulenaer, and Vincent F. M. Segers. 2020. "The Role of Endothelial Autocrine NRG1/ERBB4 Signaling in

- Cardiac Remodeling." *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology* 319 (2): H443–55. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00176.2020>.
- Dumas de la Roque, Eric, Gwladys Smeralda, Jean-François Quignard, Véronique Freund-Michel, Arnaud Courtois, Roger Marthan, Bernard Muller, Christelle Guibert, and Mathilde Dubois. 2017. "Altered Vasoreactivity in Neonatal Rats with Pulmonary Hypertension Associated with Bronchopulmonary Dysplasia: Implication of Both eNOS Phosphorylation and Calcium Signaling." *PLoS One* 12 (2): e0173044. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173044>.
- Duncker, Dirk J., and Robert J. Bache. 2008. "Regulation of Coronary Blood Flow during Exercise." *Physiological Reviews* 88 (3): 1009–86. <https://doi.org/10.1152/physrev.00045.2006>.
- Dunlay, Shannon M., Véronique L. Roger, and Margaret M. Redfield. 2017. "Epidemiology of Heart Failure with Preserved Ejection Fraction." *Nature Reviews. Cardiology* 14 (10): 591–602. <https://doi.org/10.1038/nrcardio.2017.65>.
- Dunlay, Shannon M., Nilay D. Shah, Qian Shi, Bruce Morlan, Holly VanHouten, Kirsten Hall Long, and Véronique L. Roger. 2011. "Lifetime Costs of Medical Care After Heart Failure Diagnosis." *Circulation: Cardiovascular Quality and Outcomes* 4 (1): 68–75. <https://doi.org/10.1161/CIRCOUTCOMES.110.957225>.
- Dunn, E. J., R. a. S. Ariëns, and P. J. Grant. 2005. "The Influence of Type 2 Diabetes on Fibrin Structure and Function." *Diabetologia* 48 (6): 1198–1206. <https://doi.org/10.1007/s00125-005-1742-2>.
- Dupont, S., J. Maizel, R. Mentaverri, J.-M. Chillon, I. Six, P. Giummelly, M. Brazier, et al. 2012. "The Onset of Left Ventricular Diastolic Dysfunction in SHR Rats Is Not Related to Hypertrophy or Hypertension." *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology* 302 (7): H1524–1532. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00955.2010>.
- Duprez, Daniel A., Myron D. Gross, Jorge R. Kizer, Joachim H. Ix, William G. Hundley, and David R. Jacobs. 2018. "Predictive Value of Collagen Biomarkers for Heart Failure With and Without Preserved Ejection Fraction: MESA (Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis)." *Journal of the American Heart Association* 7 (5): e007885. <https://doi.org/10.1161/JAHA.117.007885>.
- Durrant, Jessica R, Douglas R Seals, Melanie L Connell, Molly J Russell, Brooke R Lawson, Brian J Folan, Anthony J Donato, and Lisa A Lesniewski. 2009. "Voluntary Wheel Running Restores Endothelial Function in Conduit Arteries of Old Mice: Direct Evidence for Reduced Oxidative Stress, Increased Superoxide Dismutase Activity and down-Regulation of NADPH Oxidase." *The Journal of Physiology* 587 (Pt 13): 3271–85. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2009.169771>.
- Dyer, Laura A., and Margaret L. Kirby. 2009. "Sonic Hedgehog Maintains Proliferation in Secondary Heart Field Progenitors and Is Required for Normal Arterial Pole Formation." *Developmental Biology* 330 (2): 305–17. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2009.03.028>.
- Ebner, Annette, Nadine Kuerbis, Aljoscha Brandt, Birgit Zatschler, Sönke Weinert, David M. Poitz, Bernd Ebner, et al. 2017. "Endothelial Nitric Oxide Synthase-Induced Hypertrophy and Vascular Dysfunction Contribute to the Left Ventricular Dysfunction in Caveolin-1-/- Mice." *The Canadian Journal of Cardiology* 33 (12): 1716–24. <https://doi.org/10.1016/j.cjca.2017.09.015>.
- Echelard, Y., D. J. Epstein, B. St-Jacques, L. Shen, J. Mohler, J. A. McMahon, and A. P. McMahon. 1993. "Sonic Hedgehog, a Member of a Family of Putative Signaling Molecules, Is Implicated in the Regulation of CNS Polarity." *Cell* 75 (7): 1417–30. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(93\)90627-3](https://doi.org/10.1016/0092-8674(93)90627-3).
- Echouffo-Tcheugui, Justin B., Haolin Xu, Adam D. DeVore, Phillip J. Schulte, Javed Butler, Clyde W. Yancy, Deepak L. Bhatt, Adrian F. Hernandez, Paul A. Heidenreich, and Gregg C. Fonarow. 2016. "Temporal Trends and Factors Associated with Diabetes Mellitus among Patients Hospitalized with Heart Failure: Findings from Get With The Guidelines-Heart Failure Registry." *American Heart Journal* 182 (December): 9–20. <https://doi.org/10.1016/j.ahj.2016.07.025>.
- Edelmann, Frank, Lindy Musial-Bright, Goetz Gelbrich, Tobias Trippel, Sara Radenovic, Rolf Wachter, Simone Inkrot, et al. 2016. "Tolerability and Feasibility of Beta-Blocker Titration in HFpEF Versus HFrEF: Insights From the CIBIS-ELD Trial." *JACC. Heart Failure* 4 (2): 140–49. <https://doi.org/10.1016/j.jchf.2015.10.008>.

- Edelmann, Frank, Rolf Wachter, Albrecht G. Schmidt, Elisabeth Kraigher-Krainer, Caterina Colantonio, Wolfram Kamke, André Duvinage, et al. 2013. "Effect of Spironolactone on Diastolic Function and Exercise Capacity in Patients with Heart Failure with Preserved Ejection Fraction: The Aldo-DHF Randomized Controlled Trial." *JAMA* 309 (8): 781–91. <https://doi.org/10.1001/jama.2013.905>.
- Egashira, Koichi, Daisuke Sueta, Takashi Komorita, Eiichiro Yamamoto, Hiroki Usuku, Takanori Tokitsu, Koichiro Fujisue, et al. 2022. "HFA-PEFF Scores: Prognostic Value in Heart Failure with Preserved Left Ventricular Ejection Fraction." *The Korean Journal of Internal Medicine* 37 (1): 96–108. <https://doi.org/10.3904/kjim.2021.272>.
- Ehring, Kristina, Dominique Manikowski, Jonas Goretzko, Jurij Froese, Fabian Gude, Petra Jakobs, Ursula Rescher, Uwe Kirchhefer, and Kay Grobe. 2022. "Conserved Cholesterol-Related Activities of Dispatched 1 Drive Sonic Hedgehog Shedding from the Cell Membrane." *Journal of Cell Science* 135 (5): jcs258672. <https://doi.org/10.1242/jcs.258672>.
- Eichinger, Sabine, Gregor Hron, Christine Bialonczyk, Mirko Hirschl, Erich Minar, Oswald Wagner, Georg Heinze, and Paul A. Kyrle. 2008. "Overweight, Obesity, and the Risk of Recurrent Venous Thromboembolism." *Archives of Internal Medicine* 168 (15): 1678–83. <https://doi.org/10.1001/archinte.168.15.1678>.
- Eisner, David A., Jessica L. Caldwell, Kornél Kistamás, and Andrew W. Trafford. 2017. "Calcium and Excitation-Contraction Coupling in the Heart." *Circulation Research* 121 (2): 181–95. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.117.310230>.
- El-Refai, Mostafa, Edward L. Peterson, Karen Wells, Tanmay Swadia, Hani N. Sabbah, John A. Spertus, L. Keoki Williams, and David E. Lanfear. 2013. "Comparison of Beta Blocker Effectiveness in Heart Failure Patients with Preserved Ejection Fraction vs. Those with Reduced Ejection Fraction." *Journal of Cardiac Failure* 19 (2): 73–79. <https://doi.org/10.1016/j.cardfail.2012.11.011>.
- Eltzschig, Holger K., and Peter Carmeliet. 2011. "Hypoxia and Inflammation." *The New England Journal of Medicine* 364 (7): 656–65. <https://doi.org/10.1056/NEJMra0910283>.
- Empel, Vanessa P. M. van, Justin Mariani, Barry A. Borlaug, and David M. Kaye. 2014a. "Impaired Myocardial Oxygen Availability Contributes to Abnormal Exercise Hemodynamics in Heart Failure with Preserved Ejection Fraction." *Journal of the American Heart Association* 3 (6): e001293. <https://doi.org/10.1161/JAHA.114.001293>.
- Engelmann, Bernd, and Steffen Massberg. 2013. "Thrombosis as an Intravascular Effector of Innate Immunity." *Nature Reviews Immunology* 13 (1): 34–45. <https://doi.org/10.1038/nri3345>.
- Epp, Riley A., Shanel E. Susser, Marc P. Morissette, D. Scott Kehler, Davinder S. Jassal, and Todd A. Duhamel. 2013. "Exercise Training Prevents the Development of Cardiac Dysfunction in the Low-Dose Streptozotocin Diabetic Rats Fed a High-Fat Diet." *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology* 91 (1): 80–89. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2012-0294>.
- Ershler, W. B. 1993. "Interleukin-6: A Cytokine for Gerontologists." *Journal of the American Geriatrics Society* 41 (2): 176–81. <https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.1993.tb02054.x>.
- "Espérance de Vie à La Naissance En 2022 - France - TABLEAU DE BORD DE L'ÉCONOMIE FRANÇAISE." n.d. Accessed July 2, 2023. https://www.insee.fr/fr/outil-interactif/5367857/details/40_SOC/44_EGF/44A_figure1.
- Fan, Lian, Carmen V. Pepicelli, Christian C. Dibble, Winnie Catbagan, Jodi L. Zarycki, Robert Laciak, Jerry Gipp, et al. 2004. "Hedgehog Signaling Promotes Prostate Xenograft Tumor Growth." *Endocrinology* 145 (8): 3961–70. <https://doi.org/10.1210/en.2004-0079>.
- Fanola, Christina L., Faye L. Norby, Amil M. Shah, Patricia P. Chang, Pamela L. Lutsey, Wayne D. Rosamond, Mary Cushman, and Aaron R. Folsom. 2020. "Incident Heart Failure and Long-Term Risk for Venous Thromboembolism." *Journal of the American College of Cardiology* 75 (2): 148–58. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2019.10.058>.
- Farkasfalvi, Klára, Mark A. Stagg, Steven R. Coppen, Urszula Siedlecka, Joon Lee, Gopal K. Soppa, Nándor Marczin, István Szokodi, Magdi H. Yacoub, and Cesare M. N. Terracciano. 2007. "Direct Effects of Apelin on Cardiomyocyte Contractility and Electrophysiology." *Biochemical and*

- Farzan, Shohreh F., Samer Singh, Neal S. Schilling, and David J. Robbins. 2008. "Hedgehog Processing and Biological Activity." *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology* 294 (4): G844–49. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00564.2007>.
- Fattah, Mohamed A., Mohamed H. Shaheen, and M. Hesham Mahfouz. 2003. "Disturbances of Haemostasis in Diabetes Mellitus." *Disease Markers* 19 (6): 251–58. <https://doi.org/10.1155/2004/797458>.
- Feliciano, L., and R. J. Henning. 1999. "Coronary Artery Blood Flow: Physiologic and Pathophysiologic Regulation." *Clinical Cardiology* 22 (12): 775–86. <https://doi.org/10.1002/clc.4960221205>.
- Fellner, Susan K., and William J. Arendshorst. 2010. "Complex Interactions of NO/cGMP/PKG Systems on Ca²⁺ Signaling in Afferent Arteriolar Vascular Smooth Muscle." *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology* 298 (1): H144–51. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00485.2009>.
- Felmeden, Dirk C., Charles G. C. Spencer, Natali A. Y. Chung, Funmi M. Belgore, Andrew D. Blann, D. Gareth Beevers, and Gregory Y. H. Lip. 2003. "Relation of Thrombogenesis in Systemic Hypertension to Angiogenesis and Endothelial Damage/Dysfunction (a Substudy of the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial [ASCOT])." *The American Journal of Cardiology* 92 (4): 400–405. [https://doi.org/10.1016/s0002-9149\(03\)00657-x](https://doi.org/10.1016/s0002-9149(03)00657-x).
- FENDRICH, VOLKER, FARZAD ESNI, MARIA VERONICA R. GARAY, GEORG FELDMANN, NILS HABBE, JAN NYGAARD JENSEN, YUVAL DOR, et al. 2008. "Hedgehog Signaling Is Required for Effective Regeneration of Exocrine Pancreas." *Gastroenterology* 135 (2): 621–31. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2008.04.011>.
- Feng, DaLi, Ralph B. D'Agostino, Halit Silbershatz, Izabella Lipinska, Joe Massaro, Daniel Levy, Emelia J. Benjamin, Philip A. Wolf, and Geoffrey H. Tofler. 2001. "Hemostatic State and Atrial Fibrillation (The Framingham Offspring Study)." *American Journal of Cardiology* 87 (2): 168–71. [https://doi.org/10.1016/S0002-9149\(00\)01310-2](https://doi.org/10.1016/S0002-9149(00)01310-2).
- Fernández-Sánchez, Alba, Eduardo Madrigal-Santillán, Mirandeli Bautista, Jaime Esquivel-Soto, Ángel Morales-González, Cesar Esquivel-Chirino, Irene Durante-Montiel, Graciela Sánchez-Rivera, Carmen Valadez-Vega, and José A. Morales-González. 2011. "Inflammation, Oxidative Stress, and Obesity." *International Journal of Molecular Sciences* 12 (5): 3117–32. <https://doi.org/10.3390/ijms12053117>.
- Ferro, Domenico, Lorenzo Loffredo, Licia Polimeni, Filippo Fimognari, Paolo Villari, Pasquale Pignatelli, Valentin Fuster, and Francesco Violi. 2007. "Soluble CD40 Ligand Predicts Ischemic Stroke and Myocardial Infarction in Patients With Nonvalvular Atrial Fibrillation." *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 27 (12): 2763–68. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.107.152777>.
- Ferrucci, Luigi, Annamaria Corsi, Fulvio Lauretani, Stefania Bandinelli, Benedetta Bartali, Dennis D. Taub, Jack M. Guralnik, and Dan L. Longo. 2005. "The Origins of Age-Related Proinflammatory State." *Blood* 105 (6): 2294–99. <https://doi.org/10.1182/blood-2004-07-2599>.
- Festa, A., R. D'Agostino, L. Mykkänen, R. P. Tracy, D. J. Zaccaro, C. N. Hales, and S. M. Haffner. 1999. "Relative Contribution of Insulin and Its Precursors to Fibrinogen and PAI-1 in a Large Population with Different States of Glucose Tolerance. The Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS)." *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 19 (3): 562–68. <https://doi.org/10.1161/01.atv.19.3.562>.
- Fetalvero, Kristina M., Kathleen A. Martin, and John Hwa. 2007. "Cardioprotective Prostacyclin Signaling in Vascular Smooth Muscle." *Prostaglandins & Other Lipid Mediators* 82 (1–4): 109–18. <https://doi.org/10.1016/j.prostaglandins.2006.05.011>.
- Fiedler, Ulrike, Marion Scharpfenecker, Stefanie Koidl, Anja Hegen, Verena Grunow, Jarno M. Schmidt, Wilhelm Kriz, Gavin Thurston, and Hellmut G. Augustin. 2004. "The Tie-2 Ligand Angiopoietin-2 Is Stored in and Rapidly Released upon Stimulation from Endothelial Cell Weibel-Palade Bodies." *Blood* 103 (11): 4150–56. <https://doi.org/10.1182/blood-2003-10-3685>.

- Fischer, Kady, Dominik P. Guensch, Bernd Jung, Iman King, Hendrik von Tengg-Kobligh, Nadia Giannetti, Balthasar Eberle, and Matthias G. Friedrich. 2022. "Insights Into Myocardial Oxygenation and Cardiovascular Magnetic Resonance Tissue Biomarkers in Heart Failure With Preserved Ejection Fraction." *Circulation: Heart Failure* 15 (4): e008903. <https://doi.org/10.1161/CIRCHEARTFAILURE.121.008903>.
- Fleg, J. L., F. O'Connor, G. Gerstenblith, L. C. Becker, J. Clulow, S. P. Schulman, and E. G. Lakatta. 1995. "Impact of Age on the Cardiovascular Response to Dynamic Upright Exercise in Healthy Men and Women." *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)* 78 (3): 890–900. <https://doi.org/10.1152/jappl.1995.78.3.890>.
- Fleming, Ingrid, and Rudi Busse. 1999. "Signal Transduction of eNOS Activation." *Cardiovascular Research* 43 (3): 532–41. [https://doi.org/10.1016/S0008-6363\(99\)00094-2](https://doi.org/10.1016/S0008-6363(99)00094-2).
- Flierl, Ulrike, Daniela Fraccarollo, Julian D. Widder, Jan Micka, Jonas Neuser, Johann Bauersachs, and Andreas Schäfer. 2015. "The Nitric Oxide Donor Pentaerythritol Tetranitrate Reduces Platelet Activation in Congestive Heart Failure." *PLOS ONE* 10 (4): e0123621. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0123621>.
- Florey. 1966. "The Endothelial Cell." *British Medical Journal* 2 (5512): 487–90. <https://doi.org/10.1136/bmj.2.5512.487>.
- Föll, Daniela, Bernd Jung, Elfriede Schilli, Felix Staehle, Annette Geibel, Jürgen Hennig, Christoph Bode, and Michael Markl. 2010. "Magnetic Resonance Tissue Phase Mapping of Myocardial Motion: New Insight in Age and Gender." *Circulation. Cardiovascular Imaging* 3 (1): 54–64. <https://doi.org/10.1161/CIRCIMAGING.108.813857>.
- Fontbonne, Annick, Andrew Currie, Patrick Tounian, Marie-Christine Picot, Olivier Foulatier, Marius Nedelcu, and David Nocca. 2023. "Prevalence of Overweight and Obesity in France: The 2020 Obepi-Roche Study by the 'Ligue Contre l'Obésité.'" *Journal of Clinical Medicine* 12 (3): 925. <https://doi.org/10.3390/jcm12030925>.
- Franchini, Massimo. 2006. "Hemostasis and Aging." *Critical Reviews in Oncology/Hematology* 60 (2): 144–51. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2006.06.004>.
- Frank, Konrad, and Evangelia G Kranias. 2000. "Phospholamban and Cardiac Contractility." *Annals of Medicine* 32 (8): 572–78. <https://doi.org/10.3109/07853890008998837>.
- Frankel, David S, James B. Meigs, Joseph M. Massaro, Peter W. F. Wilson, Christopher J. O'Donnell, Ralph B. D'Agostino, and Geoffrey H. Tofler. 2008. "Von Willebrand Factor, Type 2 Diabetes and Risk of Cardiovascular Disease: The Framingham Offspring Study." *Circulation* 118 (24): 2533–39. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.108.792986>.
- Franssen, Constantijn, Sophia Chen, Andreas Unger, H. Ibrahim Korkmaz, Gilles W. De Keulenaer, Carsten Tschöpe, Adelino F. Leite-Moreira, et al. 2016a. "Myocardial Microvascular Inflammatory Endothelial Activation in Heart Failure With Preserved Ejection Fraction." *JACC. Heart Failure* 4 (4): 312–24. <https://doi.org/10.1016/j.jchf.2015.10.007>.
- Freitas, Daniela Fernanda, David Fernando Colón, Rangel Leal Silva, Eloá Mangabeira Santos, Victor Hugo Dantas Guimarães, Guilherme Henrique Mendes Ribeiro, Alfredo Maurício Batista de Paula, et al. 2022. "Neutrophil Extracellular Traps (NETs) Modulate Inflammatory Profile in Obese Humans and Mice: Adipose Tissue Role on NETs Levels." *Molecular Biology Reports* 49 (4): 3225–36. <https://doi.org/10.1007/s11033-022-07157-y>.
- Frisk, Michael, Christopher Le, Xin Shen, Åsmund T. Røe, Yufeng Hou, Ornella Manfra, Gustavo J. J. Silva, et al. 2021. "Etiology-Dependent Impairment of Diastolic Cardiomyocyte Calcium Homeostasis in Heart Failure With Preserved Ejection Fraction." *Journal of the American College of Cardiology* 77 (4): 405–19. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2020.11.044>.
- Fuchs, Flávio D., and Paul K. Whelton. 2020. "High Blood Pressure and Cardiovascular Disease." *Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)* 75 (2): 285–92. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.119.14240>.
- Fuchs, Tobias A., Alexander Brill, Daniel Duerschmied, Daphne Schatzberg, Marc Monestier, Daniel D. Myers, Shirley K. Wroblewski, Thomas W. Wakefield, John H. Hartwig, and Denisa D. Wagner. 2010. "Extracellular DNA Traps Promote Thrombosis." *Proceedings of the National Academy*

- of Sciences of the United States of America* 107 (36): 15880–85. <https://doi.org/10.1073/pnas.1005743107>.
- Fuchs, Tobias A., Alexander Brill, and Denisa D. Wagner. 2012. “NET Impact on Deep Vein Thrombosis.” *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 32 (8): 1777–83. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.111.242859>.
- Fujimoto, Naoki, Jeffrey L Hastings, Paul S Bhella, Shigeki Shibata, Nainesh K Gandhi, Graeme Carrick-Ranson, Dean Palmer, and Benjamin D Levine. 2012. “Effect of Ageing on Left Ventricular Compliance and Distensibility in Healthy Sedentary Humans.” *The Journal of Physiology* 590 (Pt 8): 1871–80. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2011.218271>.
- Fukuda, Norio, Takako Terui, Iwao Ohtsuki, Shin’ichi Ishiwata, and Satoshi Kurihara. 2009. “Titin and Troponin: Central Players in the Frank-Starling Mechanism of the Heart.” *Current Cardiology Reviews* 5 (2): 119–24. <https://doi.org/10.2174/157340309788166714>.
- Fukuta, Hidekatsu, David C. Sane, Steffen Brucks, and William C. Little. 2005. “Statin Therapy May Be Associated with Lower Mortality in Patients with Diastolic Heart Failure: A Preliminary Report.” *Circulation* 112 (3): 357–63. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.104.519876>.
- Furchgott, R. F., and J. V. Zawadzki. 1980. “The Obligatory Role of Endothelial Cells in the Relaxation of Arterial Smooth Muscle by Acetylcholine.” *Nature* 288 (5789): 373–76. <https://doi.org/10.1038/288373a0>.
- Furman, Brian L. 2021. “Streptozotocin-Induced Diabetic Models in Mice and Rats.” *Current Protocols* 1 (4): e78. <https://doi.org/10.1002/cpz1.78>.
- Füth, Reiner, Wilfried Dinh, Werner Nickl, Lars Bansemir, Michael Coll Barroso, Alexander Bufe, Armin Sause, et al. 2009. “Soluble P-Selectin and Matrix Metalloproteinase 2 Levels Are Elevated in Patients with Diastolic Dysfunction Independent of Glucose Metabolism Disorder or Coronary Artery Disease.” *Experimental and Clinical Cardiology* 14 (3): e76-79.
- Gabriel, Ruvin S., and Allan L. Klein. 2009. “Modern Evaluation of Left Ventricular Diastolic Function Using Doppler Echocardiography.” *Current Cardiology Reports* 11 (3): 231–38. <https://doi.org/10.1007/s11886-009-0033-9>.
- Gallistl, S., K. M. Sudi, G. Cvirn, W. Muntean, and M. Borkenstein. 2001. “Effects of Short-Term Energy Restriction and Physical Training on Haemostatic Risk Factors for Coronary Heart Disease in Obese Children and Adolescents.” *International Journal of Obesity* 25 (4): 529–32. <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0801573>.
- Gandhi, Parul U., Hanna K. Gaggin, Margaret M. Redfield, Horng H. Chen, Susanna R. Stevens, Kevin J. Anstrom, Marc J. Semigran, Peter Liu, and James L. Januzzi. 2016. “Insulin-Like Growth Factor-Binding Protein-7 as a Biomarker of Diastolic Dysfunction and Functional Capacity in Heart Failure With Preserved Ejection Fraction: Results From the RELAX Trial.” *JACC. Heart Failure* 4 (11): 860–69. <https://doi.org/10.1016/j.jchf.2016.08.002>.
- Gantner, Benjamin N., Katy M. LaFond, and Marcelo G. Bonini. 2020. “Nitric Oxide in Cellular Adaptation and Disease.” *Redox Biology* 34 (April): 101550. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101550>.
- Gao, Jie, Gang Zhao, Wei Li, Jiayuan Zhang, Yanling Che, Meiyu Song, Shan Gao, Bin Zeng, and Yuanhong Wang. 2018. “MiR-155 Targets PTCH1 to Mediate Endothelial Progenitor Cell Dysfunction Caused by High Glucose.” *Experimental Cell Research* 366 (1): 55–62. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2018.03.012>.
- García-Álvarez, Ana, Isabel Blanco, Inés García-Lunar, Paloma Jordà, Juan J. Rodríguez-Arias, Leticia Fernández-Friera, Isabel Zegri, et al. 2023. “B3 Adrenergic Agonist Treatment in Chronic Pulmonary Hypertension Associated with Heart Failure (SPHERE-HF): A Double Blind, Placebo-Controlled, Randomized Clinical Trial.” *European Journal of Heart Failure* 25 (3): 373–85. <https://doi.org/10.1002/ejhf.2745>.
- Garg, Nadish, Annamalai Senthilkumar, Maen B. Nusair, Neha Goyal, Rajeev K. Garg, and Martin A. Alpert. 2013. “Heart Failure with a Normal Left Ventricular Ejection Fraction: Epidemiology, Pathophysiology, Diagnosis and Management.” *The American Journal of the Medical Sciences* 346 (2): 129–36. <https://doi.org/10.1097/MAJ.0b013e31828c586e>.

- Garlanda, Cecilia, and Elisabetta Dejana. 1997. "Heterogeneity of Endothelial Cells." *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 17 (7): 1193–1202. <https://doi.org/10.1161/01.ATV.17.7.1193>.
- Garris, David R., Bryan L. Garris, Lesya Novikova, and Yuen-Sum Lau. 2005. "Structural, Metabolic and Endocrine Analysis of the Diabetes (Db/Db) Hypogonadal Syndrome: Relationship to Hypophyseal Hypercytolipidemia." *Cell and Tissue Research* 319 (3): 501–12. <https://doi.org/10.1007/s00441-004-1021-4>.
- Gary, Thomas, Franz Hafner, Harald Froehlich, Tatjana Stojakovic, Hubert Scharnagl, Ernst Pilger, and Marianne Brodmann. 2010. "High Factor VIII Activity, High Plasminogen Activator Inhibitor 1 Antigen Levels and Low Factor XII Activity Contribute to a Thrombophilic Tendency in Elderly Venous Thromboembolism Patients." *Acta Haematologica* 124 (4): 214–17. <https://doi.org/10.1159/000321530>.
- Gauthier, C, V Leblais, L Kobzik, J N Trochu, N Khandoudi, A Bril, J L Balligand, and H Le Marec. 1998. "The Negative Inotropic Effect of Beta3-Adrenoceptor Stimulation Is Mediated by Activation of a Nitric Oxide Synthase Pathway in Human Ventricle." *Journal of Clinical Investigation* 102 (7): 1377–84.
- Gentry, Patricia, Hilary Burgess, and Darren Wood. 2008. "Hemostasis." In *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, 287–330. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-370491-7.00010-6>.
- Ghaleh, Bijan, Jérôme Thireau, Olivier Cazorla, Raffaella Soleti, Valérie Scheuermann, Alain Bizé, Lucien Sambin, et al. 2020. "Cardioprotective Effect of Sonic Hedgehog Ligand in Pig Models of Ischemia Reperfusion." *Theranostics* 10 (9): 4006–16. <https://doi.org/10.7150/thno.40461>.
- Giaid, A., D. Saleh, M. Yanagisawa, and R. D. Forbes. 1995. "Endothelin-1 Immunoreactivity and mRNA in the Transplanted Human Heart." *Transplantation* 59 (9): 1308–13.
- Giordano, F. J., H. P. Gerber, S. P. Williams, N. VanBruggen, S. Bunting, P. Ruiz-Lozano, Y. Gu, et al. 2001. "A Cardiac Myocyte Vascular Endothelial Growth Factor Paracrine Pathway Is Required to Maintain Cardiac Function." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98 (10): 5780–85. <https://doi.org/10.1073/pnas.091415198>.
- Gkaliagkousi, Eugenia, Valerie Corrigall, Silke Becker, Patricia de Winter, Ashish Shah, Chrysanthos Zamboulis, James Ritter, and Albert Ferro. 2009. "Decreased Platelet Nitric Oxide Contributes to Increased Circulating Monocyte-Platelet Aggregates in Hypertension." *European Heart Journal* 30 (24): 3048–54. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehp330>.
- Glezeva, Nadezhda, John F. Gilmer, Chris J. Watson, and Mark Ledwidge. 2016. "A Central Role for Monocyte–Platelet Interactions in Heart Failure." *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics* 21 (3): 245–61. <https://doi.org/10.1177/1074248415609436>.
- Glezeva, Nadezhda, Victor Voon, Chris Watson, Stephen Horgan, Kenneth McDonald, Mark Ledwidge, and John Baugh. 2015a. "Exaggerated Inflammation and Monocytosis Associate with Diastolic Dysfunction in Heart Failure with Preserved Ejection Fraction: Evidence of M2 Macrophage Activation in Disease Pathogenesis." *Journal of Cardiac Failure* 21 (2): 167–77. <https://doi.org/10.1016/j.cardfail.2014.11.004>.
- "Global Diabetes Data Report 2000 — 2045." n.d. Accessed March 10, 2023. <https://diabetesatlas.org/data/en/world>.
- Goddeeris, Matthew M., Silvia Rho, Alexandra Petiet, Chandra L. Davenport, G. Allan Johnson, Erik N. Meyers, and John Klingensmith. 2008. "Intracardiac Septation Requires Hedgehog-Dependent Cellular Contributions from Outside the Heart." *Development* 135 (10): 1887–95. <https://doi.org/10.1242/dev.016147>.
- Goldin, Alison, Joshua A. Beckman, Ann Marie Schmidt, and Mark A. Creager. 2006. "Advanced Glycation End Products." *Circulation* 114 (6): 597–605. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.621854>.
- Gong, Fei Fei, Michael V. Jelinek, Julian M. Castro, Jennifer M. Collier, Michele McGrady, Umberto Boffa, Louise Shiel, et al. 2018. "Risk Factors for Incident Heart Failure with Preserved or Reduced Ejection Fraction, and Valvular Heart Failure, in a Community-Based Cohort." *Open Heart* 5 (2): e000782. <https://doi.org/10.1136/openhrt-2018-000782>.

- González, Arantxa, Begoña López, Ramón Querejeta, Elena Zubillaga, Tomás Echeverría, and Javier Díez. 2010. "Filling Pressures and Collagen Metabolism in Hypertensive Patients with Heart Failure and Normal Ejection Fraction." *Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)* 55 (6): 1418–24. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.109.149112>.
- González, Germán E., Nour-Eddine Rhaleb, Martin A. D'ambrosio, Pablo Nakagawa, Yunhe Liu, Pablo Leung, Xiangguo Dai, Xiao-Ping Yang, Edward L. Peterson, and Oscar A. Carretero. 2015. "Deletion of Interleukin-6 Prevents Cardiac Inflammation, Fibrosis and Dysfunction without Affecting Blood Pressure in Angiotensin II-High Salt-Induced Hypertension." *Journal of Hypertension* 33 (1): 144–52. <https://doi.org/10.1097/HJH.0000000000000358>.
- González-Mariscal, Lorenza, Rocio Tapia, and David Chamorro. 2008. "Crosstalk of Tight Junction Components with Signaling Pathways." *Biochimica Et Biophysica Acta* 1778 (3): 729–56. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2007.08.018>.
- Goodrich, L. V., R. L. Johnson, L. Milenkovic, J. A. McMahon, and M. P. Scott. 1996. "Conservation of the Hedgehog/Patched Signaling Pathway from Flies to Mice: Induction of a Mouse Patched Gene by Hedgehog." *Genes & Development* 10 (3): 301–12. <https://doi.org/10.1101/gad.10.3.301>.
- Goodwill, Adam G., Gregory M. Dick, Alexander M. Kiel, and Johnathan D. Tune. 2017. "Regulation of Coronary Blood Flow." *Comprehensive Physiology* 7 (2): 321–82. <https://doi.org/10.1002/cphy.c160016>.
- Gordon, A. M., A. F. Huxley, and F. J. Julian. 1966. "The Variation in Isometric Tension with Sarcomere Length in Vertebrate Muscle Fibres." *The Journal of Physiology* 184 (1): 170–92. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1966.sp007909>.
- Goursaud, S., and D. du Cheyron. 2014. "Le syndrome cardiorénal : diagnostic, physiopathologie et prise en charge." *Réanimation* 23 (6): 585–94. <https://doi.org/10.1007/s13546-014-0897-6>.
- Grandi, A. M., A. Venco, F. Barzizza, F. Scalise, P. Pantaleo, and G. Finardi. 1992. "Influence of Age and Sex on Left Ventricular Anatomy and Function in Normals." *Cardiology* 81 (1): 8–13. <https://doi.org/10.1159/000175770>.
- Grant, P. J. 2005. "Inflammatory, Atherothrombotic Aspects of Type 2 Diabetes." *Current Medical Research and Opinion* 21 Suppl 1: S5-12. <https://doi.org/10.1185/030079905X36431>.
- Grazia Lampugnani, Maria, Adriana Zanetti, Monica Corada, Takamune Takahashi, Giovanna Balconi, Ferruccio Breviario, Fabrizio Orsenigo, et al. 2003. "Contact Inhibition of VEGF-Induced Proliferation Requires Vascular Endothelial Cadherin, Beta-Catenin, and the Phosphatase DEP-1/CD148." *The Journal of Cell Biology* 161 (4): 793–804. <https://doi.org/10.1083/jcb.200209019>.
- Gregorio, C. C., K. Trombitás, T. Centner, B. Kolmerer, G. Stier, K. Kunke, K. Suzuki, et al. 1998. "The NH2 Terminus of Titin Spans the Z-Disc: Its Interaction with a Novel 19-kD Ligand (T-Cap) Is Required for Sarcomeric Integrity." *The Journal of Cell Biology* 143 (4): 1013–27. <https://doi.org/10.1083/jcb.143.4.1013>.
- Gresele, Paolo, Giuseppe Guglielmini, Massimiliano De Angelis, Silvia Ciferri, Marco Ciofetta, Emanuela Falcinelli, Carlo Lalli, Giovanni Ciabattini, Giovanni Davì, and Geremia B. Bolli. 2003. "Acute, Short-Term Hyperglycemia Enhances Shear Stress-Induced Platelet Activation in Patients with Type II Diabetes Mellitus." *Journal of the American College of Cardiology* 41 (6): 1013–20. [https://doi.org/10.1016/s0735-1097\(02\)02972-8](https://doi.org/10.1016/s0735-1097(02)02972-8).
- Griffiths, Samuel C., Rebekka A. Schwab, Kamel El Omari, Benjamin Bishop, Ellen J. Iverson, Tomas Malinauskas, Ramin Dubey, et al. 2021. "Hedgehog-Interacting Protein Is a Multimodal Antagonist of Hedgehog Signalling." *Nature Communications* 12 (1): 7171. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-27475-2>.
- Groenewegen, Amy, Frans H. Rutten, Arend Mosterd, and Arno W. Hoes. 2020a. "Epidemiology of Heart Failure." *European Journal of Heart Failure* 22 (8): 1342–56. <https://doi.org/10.1002/ejhf.1858>.
- Gu, Jun, Jian-An Pan, Hao Lin, Jun-Feng Zhang, and Chang-Qian Wang. 2021. "Characteristics, Prognosis and Treatment Response in Distinct Phenogroups of Heart Failure with Preserved Ejection

- Fraction." *International Journal of Cardiology* 323 (January): 148–54. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2020.08.065>.
- Guimbal, Sarah, Lauriane Cornuault, Paul Rouault, Pierre-Louis Hollier, Candice Chapouly, Marie-Lise Bats, Julien Imbault, Alain-Pierre Gadeau, Thierry Couffinhall, and Marie-Ange Renault. 2021a. "Mast Cells Are the Trigger of Small Vessel Disease and Diastolic Dysfunction in Diabetic Obese Mice." *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 41 (4): e193–207. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.121.315900>.
- Gulliksson, Magdalena, Ricardo F. S. Carvalho, Erik Ullerås, and Gunnar Nilsson. 2010. "Mast Cell Survival and Mediator Secretion in Response to Hypoxia." *PLoS One* 5 (8): e12360. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0012360>.
- Gupta, Sachin, Naoko Takebe, and Patricia LoRusso. 2010. "Targeting the Hedgehog Pathway in Cancer." *Therapeutic Advances in Medical Oncology* 2 (4): 237–50. <https://doi.org/10.1177/1758834010366430>.
- Gustafsson, C, M Blombäck, M Britton, A Hamsten, and J Svensson. 1990. "Coagulation Factors and the Increased Risk of Stroke in Nonvalvular Atrial Fibrillation." *Stroke* 21 (1): 47–51. <https://doi.org/10.1161/01.STR.21.1.47>.
- Guzzetta, Alexander, Mervenaz Koska, Megan Rowton, Kaelan R. Sullivan, Jessica Jacobs-Li, Junghun Kweon, Hunter Hidalgo, et al. 2020. "Hedgehog–FGF Signaling Axis Patterns Anterior Mesoderm during Gastrulation." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 117 (27): 15712–23. <https://doi.org/10.1073/pnas.1914167117>.
- Haass, Markus, Dalane W. Kitzman, Inder S. Anand, Alan Miller, Michael R. Zile, Barry M. Massie, and Peter E. Carson. 2011. "Body Mass Index and Adverse Cardiovascular Outcomes in Heart Failure Patients with Preserved Ejection Fraction: Results from the I-PRESERVE Trial." *Circulation. Heart Failure* 4 (3): 324–31. <https://doi.org/10.1161/CIRCHEARTFAILURE.110.959890>.
- Hage, Camilla, Mette Bjerre, Jan Frystyk, Harvest F. Gu, Kerstin Brismar, Erwan Donal, Jean-Claude Daubert, Cecilia Linde, and Lars H. Lund. 2018. "Comparison of Prognostic Usefulness of Serum Insulin-Like Growth Factor-Binding Protein 7 in Patients With Heart Failure and Preserved Versus Reduced Left Ventricular Ejection Fraction." *The American Journal of Cardiology* 121 (12): 1558–66. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2018.02.041>.
- Hage, Camilla, Eva Wårdell, Cecilia Linde, Erwan Donal, Carolyn S.P. Lam, Claude Daubert, Lars H. Lund, and Agneta Månsson-Broberg. 2020. "Circulating Neuregulin1-β in Heart Failure with Preserved and Reduced Left Ventricular Ejection Fraction." *ESC Heart Failure* 7 (2): 445–55. <https://doi.org/10.1002/ehf2.12615>.
- Hahn, H., C. Wicking, P. G. Zaphiropoulos, M. R. Gailani, S. Shanley, A. Chidambaram, I. Vorechovsky, et al. 1996. "Mutations of the Human Homolog of Drosophila Patched in the Nevoid Basal Cell Carcinoma Syndrome." *Cell* 85 (6): 841–51. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)81268-4](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)81268-4).
- Hahn, Virginia S., Hildur Knutsdottir, Xin Luo, Kenneth Bedi, Kenneth B. Margulies, Saptarsi M. Haldar, Marina Stolina, et al. 2021. "Myocardial Gene Expression Signatures in Human Heart Failure With Preserved Ejection Fraction." *Circulation* 143 (2): 120–34. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.120.050498>.
- Hald, Erin M., Ludvig B. Rinde, Maja-Lisa Løchen, Ellisiv B. Mathiesen, Tom Wilsgaard, Inger Njølstad, Sigrid K. Brækkan, and John-Bjarne Hansen. 2018. "Atrial Fibrillation and Cause-Specific Risks of Pulmonary Embolism and Ischemic Stroke." *Journal of the American Heart Association* 7 (3): e006502. <https://doi.org/10.1161/JAHA.117.006502>.
- Hallikas, Outi, Kimmo Palin, Natalia Sinjushina, Reetta Rautiainen, Juha Partanen, Esko Ukkonen, and Jussi Taipale. 2006. "Genome-Wide Prediction of Mammalian Enhancers Based on Analysis of Transcription-Factor Binding Affinity." *Cell* 124 (1): 47–59. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.10.042>.
- Hamburg, Naomi M., Joseph Palmisano, Martin G. Larson, Lisa M. Sullivan, Birgitta T. Lehman, Ramachandran S. Vasan, Daniel Levy, Gary F. Mitchell, Joseph A. Vita, and Emelia J. Benjamin. 2011. "Relation of Brachial and Digital Measures of Vascular Function in the Community: The

- Framingham Heart Study." *Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)* 57 (3): 390–96. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.110.160812>.
- Hamdani, Nazha, Kalkidan G. Bishu, Marion von Frieling-Salewsky, Margaret M. Redfield, and Wolfgang A. Linke. 2013. "Deranged Myofilament Phosphorylation and Function in Experimental Heart Failure with Preserved Ejection Fraction." *Cardiovascular Research* 97 (3): 464–71. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvs353>.
- Hamdani, Nazha, Constantijn Franssen, André Lourenço, Inês Falcão-Pires, Dulce Fontoura, Sara Leite, Luisa Plettig, et al. 2013. "Myocardial Titin Hypophosphorylation Importantly Contributes to Heart Failure with Preserved Ejection Fraction in a Rat Metabolic Risk Model." *Circulation. Heart Failure* 6 (6): 1239–49. <https://doi.org/10.1161/CIRCHEARTFAILURE.113.000539>.
- Hamdani, Nazha, Anne-Sophie Hervent, Leni Vandekerckhove, Veerle Matheussen, Marc Demolder, Lesley Baerts, Ingrid De Meester, Wolfgang A. Linke, Walter J. Paulus, and Gilles W. De Keulenaer. 2014. "Left Ventricular Diastolic Dysfunction and Myocardial Stiffness in Diabetic Mice Is Attenuated by Inhibition of Dipeptidyl Peptidase 4." *Cardiovascular Research* 104 (3): 423–31. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvu223>.
- Hamdani, Nazha, Judith Krysiak, Michael M. Kreusser, Stefan Neef, Cristobal G. Dos Remedios, Lars S. Maier, Markus Krüger, Johannes Backs, and Wolfgang A. Linke. 2013. "Crucial Role for Ca²⁺/Calmodulin-Dependent Protein Kinase-II in Regulating Diastolic Stress of Normal and Failing Hearts via Titin Phosphorylation." *Circulation Research* 112 (4): 664–74. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.111.300105>.
- Harada, E., O. Nakagawa, M. Yoshimura, M. Harada, M. Nakagawa, Y. Mizuno, Y. Shimasaki, et al. 1999. "Effect of Interleukin-1 Beta on Cardiac Hypertrophy and Production of Natriuretic Peptides in Rat Cardiocyte Culture." *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 31 (11): 1997–2006. <https://doi.org/10.1006/jmcc.1999.1030>.
- Harper, P. L., E. Theakston, J. Ahmed, and P. Ockelford. 2007. "D-Dimer Concentration Increases with Age Reducing the Clinical Value of the D-Dimer Assay in the Elderly." *Internal Medicine Journal* 37 (9): 607–13. <https://doi.org/10.1111/j.1445-5994.2007.01388.x>.
- Harris, Andrew L. 2007. "Connexin Channel Permeability to Cytoplasmic Molecules." *Progress in Biophysics and Molecular Biology* 94 (1–2): 120–43. <https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2007.03.011>.
- Hasegawa, Koji, Hisayoshi Fujiwara, Masatoshi Koshiji, Tsukasa Inada, Seiji Ohtani, Kiyoshi Doyama, Masaru Tanaka, et al. 1996. "Endothelin-1 and Its Receptor in Hypertrophic Cardiomyopathy." *Hypertension* 27 (2): 259–64. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.27.2.259>.
- Hassanpour, Mehdi, Aysa Rezagahsh, Reza Rahbarghazi, Alireza Nourazarian, Mohammad Nouri, Çığır Biray Avci, Shahrooz Ghaderi, Neda Alidadyani, Bakiye Goker Bagca, and Hesam Saghaei Bagheri. 2017. "Functional Convergence of Akt Protein with VEGFR-1 in Human Endothelial Progenitor Cells Exposed to Sera from Patient with Type 2 Diabetes Mellitus." *Microvascular Research* 114 (November): 101–13. <https://doi.org/10.1016/j.mvr.2017.07.002>.
- Hausmann, George, Christian von Mering, and Konrad Basler. 2009. "The Hedgehog Signaling Pathway: Where Did It Come From?" *PLoS Biology* 7 (6): e1000146. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000146>.
- Hayashi, Takeharu, Takuro Arimura, Manatsu Itoh-Satoh, Kazuo Ueda, Shigeru Hohda, Natsuko Inagaki, Megumi Takahashi, et al. 2004. "Tcap Gene Mutations in Hypertrophic Cardiomyopathy and Dilated Cardiomyopathy." *Journal of the American College of Cardiology* 44 (11): 2192–2201. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2004.08.058>.
- Haykowsky, Mark J., David M. Herrington, Peter H. Brubaker, Timothy M. Morgan, W. Gregory Hundley, and Dalane W. Kitzman. 2013. "Relationship of Flow-Mediated Arterial Dilatation and Exercise Capacity in Older Patients With Heart Failure and Preserved Ejection Fraction." *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences* 68 (2): 161–67. <https://doi.org/10.1093/gerona/gls099>.

- Hayward, C. S., and R. P. Kelly. 1997. "Gender-Related Differences in the Central Arterial Pressure Waveform." *Journal of the American College of Cardiology* 30 (7): 1863–71. [https://doi.org/10.1016/s0735-1097\(97\)00378-1](https://doi.org/10.1016/s0735-1097(97)00378-1).
- He, Quan-Wei, Yuan-Peng Xia, Sheng-Cai Chen, Yong Wang, Ming Huang, Yan Huang, Jian-Yong Li, et al. 2013. "Astrocyte-Derived Sonic Hedgehog Contributes to Angiogenesis in Brain Microvascular Endothelial Cells via RhoA/ROCK Pathway after Oxygen-Glucose Deprivation." *Molecular Neurobiology* 47 (3): 976–87. <https://doi.org/10.1007/s12035-013-8396-8>.
- He, Xiaochen, Heng Zeng, and Jian-Xiong Chen. 2019. "Emerging Role of SIRT3 in Endothelial Metabolism, Angiogenesis and Cardiovascular Disease." *Journal of Cellular Physiology* 234 (3): 2252–65. <https://doi.org/10.1002/jcp.27200>.
- He, Xiaochen, Heng Zeng, Sean T Chen, Richard J Roman, Judy L Aschner, Sean Didion, and Jian-Xiong Chen. 2017. "Endothelial Specific SIRT3 Deletion Impairs Glycolysis and Angiogenesis and Causes Diastolic Dysfunction." *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 112 (November): 104–13. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2017.09.007>.
- Hebrok, M., S. K. Kim, B. St Jacques, A. P. McMahon, and D. A. Melton. 2000. "Regulation of Pancreas Development by Hedgehog Signaling." *Development (Cambridge, England)* 127 (22): 4905–13. <https://doi.org/10.1242/dev.127.22.4905>.
- Hedman, Åsa K., Camilla Hage, Anil Sharma, Mary Julia Brosnan, Leonard Buckbinder, Li-Ming Gan, Sanjiv J. Shah, et al. 2020. "Identification of Novel Pheno-Groups in Heart Failure with Preserved Ejection Fraction Using Machine Learning." *Heart* 106 (5): 342–49. <https://doi.org/10.1136/heartjnl-2019-315481>.
- Heerebeek, Loek van, Attila Borbély, Hans W.M. Niessen, Jean G.F. Bronzwaer, Jolanda van der Velden, Ger J.M. Stienen, Wolfgang A. Linke, Gerrit J. Laarman, and Walter J. Paulus. 2006. "Myocardial Structure and Function Differ in Systolic and Diastolic Heart Failure." *Circulation* 113 (16): 1966–73. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.105.587519>.
- Heerebeek, Loek van, Nazha Hamdani, Inês Falcão-Pires, Adelino F. Leite-Moreira, Mark P. V. Begieneman, Jean G. F. Bronzwaer, Jolanda van der Velden, et al. 2012. "Low Myocardial Protein Kinase G Activity in Heart Failure with Preserved Ejection Fraction." *Circulation* 126 (7): 830–39. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.111.076075>.
- Heerebeek, Loek van, Nazha Hamdani, M. Louis Handoko, Ines Falcao-Pires, René J. Musters, Koba Kupreishvili, Alexander J. J. Ijsselmuiden, et al. 2008. "Diastolic Stiffness of the Failing Diabetic Heart: Importance of Fibrosis, Advanced Glycation End Products, and Myocyte Resting Tension." *Circulation* 117 (1): 43–51. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.107.728550>.
- Heeringa, J., D. S. G. Conway, D. a. M. Van Der Kuip, A. Hofman, M. M. B. Breteler, G. Y. H. Lip, and J. C. M. Witteman. 2006. "A Longitudinal Population-based Study of Prothrombotic Factors in Elderly Subjects with Atrial Fibrillation: The Rotterdam Study 1990–1999." *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 4 (9): 1944–49. <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2006.02115.x>.
- Hegab, Zeinab, Tamer M.A. Mohamed, Nicholas Stafford, Mamas Mamas, Elizabeth J. Cartwright, and Delvac Oceandy. 2017. "Advanced Glycation End Products Reduce the Calcium Transient in Cardiomyocytes by Increasing Production of Reactive Oxygen Species and Nitric Oxide." *FEBS Open Bio* 7 (11): 1672–85. <https://doi.org/10.1002/2211-5463.12284>.
- Heidenreich, Paul A., Biykem Bozkurt, David Aguilar, Larry A. Allen, Joni J. Byun, Monica M. Colvin, Anita Deswal, et al. 2022. "2022 AHA/ACC/HFSA Guideline for the Management of Heart Failure: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Joint Committee on Clinical Practice Guidelines." *Circulation* 145 (18): e895–1032. <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000001063>.
- Heinzel, Frank R., Felix Hohendanner, Ge Jin, Simon Sedej, and Frank Edelmann. 2015. "Myocardial Hypertrophy and Its Role in Heart Failure with Preserved Ejection Fraction." *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md. : 1985)* 119 (10): 1233–42. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00374.2015>.

- Heinzel, Frank R., and Sanjiv J. Shah. 2022. "The Future of Heart Failure with Preserved Ejection Fraction." *Herz* 47 (4): 308–23. <https://doi.org/10.1007/s00059-022-05124-8>.
- Heit, J. A., D. N. Mohr, M. D. Silverstein, T. M. Petterson, W. M. O'Fallon, and L. J. Melton. 2000. "Predictors of Recurrence after Deep Vein Thrombosis and Pulmonary Embolism: A Population-Based Cohort Study." *Archives of Internal Medicine* 160 (6): 761–68. <https://doi.org/10.1001/archinte.160.6.761>.
- Henning, Robert J. 2020. "Diagnosis and Treatment of Heart Failure with Preserved Left Ventricular Ejection Fraction." *World Journal of Cardiology* 12 (1): 7–25. <https://doi.org/10.4330/wjc.v12.i1.7>.
- Hermanides, J., D. M. Cohn, J. H. Devries, P. W. Kamphuisen, R. Huijgen, J. C. M. Meijers, J. B. L. Hoekstra, and H. R. Büller. 2009. "Venous Thrombosis Is Associated with Hyperglycemia at Diagnosis: A Case-Control Study." *Journal of Thrombosis and Haemostasis: JTH* 7 (6): 945–49. <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2009.03442.x>.
- Hernandez, Adrian F., Bradley G. Hammill, Christopher M. O'Connor, Kevin A. Schulman, Lesley H. Curtis, and Gregg C. Fonarow. 2009. "Clinical Effectiveness of Beta-Blockers in Heart Failure: Findings from the OPTIMIZE-HF (Organized Program to Initiate Lifesaving Treatment in Hospitalized Patients with Heart Failure) Registry." *Journal of the American College of Cardiology* 53 (2): 184–92. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2008.09.031>.
- Hidalgo, Carlos G., Charles S. Chung, Chandra Saripalli, Mei Methawasini, Kirk R. Hutchinson, George Tsapralis, Siegfried Labeit, Alicia Mattiazzi, and Henk L. Granzier. 2013. "The Multifunctional Ca(2+)/Calmodulin-Dependent Protein Kinase II Delta (CaMKII δ) Phosphorylates Cardiac Titin's Spring Elements." *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 54 (January): 90–97. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2012.11.012>.
- Hidalgo, Carlos, Bryan Hudson, Julius Bogomolovas, Yi Zhu, Brian Anderson, Marion Greaser, Siegfried Labeit, and Henk Granzier. 2009. "PKC Phosphorylation of Titin's PEVK Element-- a Novel and Conserved Pathway for Modulating Myocardial Stiffness." *Circulation Research* 105 (7): 631–38. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.109.198465>.
- Hill, C. E., N. Rummery, H. Hickey, and S. L. Sandow. 2002. "Heterogeneity in the Distribution of Vascular Gap Junctions and Connexins: Implications for Function." *Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology* 29 (7): 620–25. <https://doi.org/10.1046/j.1440-1681.2002.03699.x>.
- Hinsbergh, V. W. van, E. A. van den Berg, W. Fiers, and G. Dooijewaard. 1990. "Tumor Necrosis Factor Induces the Production of Urokinase-Type Plasminogen Activator by Human Endothelial Cells." *Blood* 75 (10): 1991–98.
- Hinsbergh, V. W. van, T. Kooistra, E. A. van den Berg, H. M. Princen, W. Fiers, and J. J. Emeis. 1988. "Tumor Necrosis Factor Increases the Production of Plasminogen Activator Inhibitor in Human Endothelial Cells in Vitro and in Rats in Vivo." *Blood* 72 (5): 1467–73.
- Hinsbergh, Victor W. M. van. 2012. "Endothelium—Role in Regulation of Coagulation and Inflammation." *Seminars in Immunopathology* 34 (1): 93–106. <https://doi.org/10.1007/s00281-011-0285-5>.
- Hinton, Robert B., and Katherine E. Yutzey. 2011. "Heart Valve Structure and Function in Development and Disease." *Annual Review of Physiology* 73: 29–46. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-012110-142145>.
- Ho, Jennifer E., Danielle Enserro, Frank P. Brouwers, Jorge R. Kizer, Sanjiv J. Shah, Bruce M. Psaty, Traci M. Bartz, et al. 2016. "Predicting Heart Failure With Preserved and Reduced Ejection Fraction." *Circulation: Heart Failure* 9 (6): e003116. <https://doi.org/10.1161/CIRCHEARTFAILURE.115.003116>.
- Ho Wei, Lan, Mohammad Arastoo, Ioanna Georgiou, David R. Manning, and Natalia A. Riobo-Del Galdo. 2018. "Activation of the Gi Protein-RHOA Axis by Non-Canonical Hedgehog Signaling Is Independent of Primary Cilia." *PloS One* 13 (8): e0203170. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203170>.

- Hochman-Mendez, Camila, Ernesto Curty, and Doris A. Taylor. 2020. "Change the Laminin, Change the Cardiomyocyte: Improve Untreatable Heart Failure." *International Journal of Molecular Sciences* 21 (17): 6013. <https://doi.org/10.3390/ijms21176013>.
- Hoffmann, Andrew D., Michael A. Peterson, Joshua M. Friedland-Little, Stuart A. Anderson, and Ivan P. Moskowitz. 2009. "Sonic Hedgehog Is Required in Pulmonary Endoderm for Atrial Septation." *Development (Cambridge, England)* 136 (10): 1761–70. <https://doi.org/10.1242/dev.034157>.
- Hollier, Pierre-Louis, Candice Chapouly, Aissata Diop, Sarah Guimbal, Lauriane Cornuault, Alain-Pierre Gadeau, and Marie-Ange Renault. 2021. "Full-Length Dhh and N-Terminal Shh Act as Competitive Antagonists to Regulate Angiogenesis and Vascular Permeability." *Cardiovascular Research* 117 (12): 2489–2501. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvaa285>.
- Holst, Anders G., Gorm Jensen, and Eva Prescott. 2010. "Risk Factors for Venous Thromboembolism." *Circulation* 121 (17): 1896–1903. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.109.921460>.
- Holtz, Alexander M., Samuel C. Griffiths, Samantha J. Davis, Benjamin Bishop, Christian Siebold, and Benjamin L. Allen. 2015. "Secreted HHIP1 Interacts with Heparan Sulfate and Regulates Hedgehog Ligand Localization and Function." *The Journal of Cell Biology* 209 (5): 739–58. <https://doi.org/10.1083/jcb.201411024>.
- Homma, Shunichi, John L. P. Thompson, Patrick M. Pullicino, Bruce Levin, Ronald S. Freudenberger, John R. Teerlink, Susan E. Ammon, et al. 2012. "Warfarin and Aspirin in Patients with Heart Failure and Sinus Rhythm." *The New England Journal of Medicine* 366 (20): 1859–69. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1202299>.
- Homme, Rubens P., Akash K. George, Mahavir Singh, Irina Smolenkova, Yuting Zheng, Sathnur Pushpakumar, and Suresh C. Tyagi. 2021. "Mechanism of Blood–Heart-Barrier Leakage: Implications for COVID-19 Induced Cardiovascular Injury." *International Journal of Molecular Sciences* 22 (24): 13546. <https://doi.org/10.3390/ijms222413546>.
- Horák, Pavel, Kateřina Kreisingerová, Jiri Réda, Lubica Ondrušová, Jan Balko, Jiri Vachtenheim, Petra Žáková, and Jiri Vachtenheim. 2023. "The Hedgehog/GLI Signaling Pathway Activates Transcription of Slug (Snail2) in Melanoma Cells." *Oncology Reports* 49 (4): 75. <https://doi.org/10.3892/or.2023.8512>.
- Hsu, Chih-Neng, Chin-Feng Hsuan, Daniel Liao, Jack Keng-Jui Chang, Allen Jiun-Wei Chang, Siow-Wey Hee, Hsiao-Lin Lee, and Sean I. F. Teng. 2023. "Anti-Diabetic Therapy and Heart Failure: Recent Advances in Clinical Evidence and Molecular Mechanism." *Life* 13 (4): 1024. <https://doi.org/10.3390/life13041024>.
- Hu, J. R., R. Von Harsdorf, and R. E. Lang. 1988. "Endothelin Has Potent Inotropic Effects in Rat Atria." *European Journal of Pharmacology* 158 (3): 275–78. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(88\)90079-9](https://doi.org/10.1016/0014-2999(88)90079-9).
- Hu, Jianqiang, Shanjie Wang, Zhenyu Xiong, Zheng Cheng, Zhi Yang, Jie Lin, Tingting Wang, et al. 2018. "Exosomal Mst1 Transfer from Cardiac Microvascular Endothelial Cells to Cardiomyocytes Deteriorates Diabetic Cardiomyopathy." *Biochimica Et Biophysica Acta. Molecular Basis of Disease* 1864 (11): 3639–49. <https://doi.org/10.1016/j.bbdis.2018.08.026>.
- Huang, Alex L., Julian J. Bosco, and Karlheinz Peter. 2017. "Mast Cell." *Circulation Research* 121 (8): 899–901. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.117.311777>.
- Huang, Christopher, David Chambers, and Gareth Matthews, eds. 2015. "Pressure–Volume Loops." In *Basic Physiology for Anaesthetists*, 135–40. Cambridge: Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/CBO9781139226394.032>.
- Huang, Liyan, Lin Liang, Pengchao Tian, Lang Zhao, Yuyi Chen, Yan Huang, Qiong Zhou, et al. 2022. "D-Dimer and Outcomes in Hospitalized Heart Failure Patients across the Ejection Fraction Phenotypes." *ESC Heart Failure* 9 (5): 3060–70. <https://doi.org/10.1002/ehf2.14049>.
- Huang, Pengxiang, Bradley M. Wierbowski, Tengfei Lian, Charlene Chan, Sara García-Linares, Jiansen Jiang, and Adrian Salic. 2022. "Structural Basis for Catalyzed Assembly of the Sonic Hedgehog-Patched1 Signaling Complex." *Developmental Cell* 57 (5): 670–685.e8. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2022.02.008>.

- Huang, Shuhong, Jing He, Xiaoli Zhang, Yuehong Bian, Ling Yang, Guorui Xie, Kefei Zhang, et al. 2006. "Activation of the Hedgehog Pathway in Human Hepatocellular Carcinomas." *Carcinogenesis* 27 (7): 1334–40. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgi378>.
- Hudlicka, O., M. Brown, and S. Egginton. 1992. "Angiogenesis in Skeletal and Cardiac Muscle." *Physiological Reviews* 72 (2): 369–417. <https://doi.org/10.1152/physrev.1992.72.2.369>.
- Hudson, Bryan D., Carlos G. Hidalgo, Michael Gotthardt, and Henk L. Granzier. 2010. "Excision of Titin's Cardiac PEVK Spring Element Abolishes PKC α -Induced Increases in Myocardial Stiffness." *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 48 (5): 972–78. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2009.12.006>.
- Huerta, Ana, Begoña López, Susana Ravassa, Gorka San José, Ramón Querejeta, Óscar Beloqui, Elena Zubillaga, et al. 2016. "Association of Cystatin C with Heart Failure with Preserved Ejection Fraction in Elderly Hypertensive Patients: Potential Role of Altered Collagen Metabolism." *Journal of Hypertension* 34 (1): 130. <https://doi.org/10.1097/HJH.0000000000000757>.
- Hui, Chi-chung, and Stephane Angers. 2011. "Gli Proteins in Development and Disease." *Annual Review of Cell and Developmental Biology* 27 (1): 513–37. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-092910-154048>.
- Hulsmans, Maarten, Hendrik B. Sager, Jason D. Roh, María Valero-Muñoz, Nicholas E. Houston, Yoshiko Iwamoto, Yuan Sun, et al. 2018. "Cardiac Macrophages Promote Diastolic Dysfunction." *Journal of Experimental Medicine* 215 (2): 423–40. <https://doi.org/10.1084/jem.20171274>.
- Hummel, K. P., D. L. Coleman, and P. W. Lane. 1972. "The Influence of Genetic Background on Expression of Mutations at the Diabetes Locus in the Mouse. I. C57BL-KsJ and C57BL-6J Strains." *Biochemical Genetics* 7 (1): 1–13. <https://doi.org/10.1007/BF00487005>.
- Hundelshausen, P. von, K. S. Weber, Y. Huo, A. E. Proudfoot, P. J. Nelson, K. Ley, and C. Weber. 2001a. "RANTES Deposition by Platelets Triggers Monocyte Arrest on Inflamed and Atherosclerotic Endothelium." *Circulation* 103 (13): 1772–77. <https://doi.org/10.1161/01.cir.103.13.1772>.
- Hunt, Sharon A, David W Baker, Marshall H Chin, Michael P Cinquegrani, Arthur M Feldman, Gary S Francis, Theodore G Ganiats, et al. 2001. "ACC/AHA Guidelines for the Evaluation and Management of Chronic Heart Failure in the Adult: Executive Summary: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee to Revise the 1995 Guidelines for the Evaluation and Management of Heart Failure)." *Journal of the American College of Cardiology* 38 (7): 2101–13. [https://doi.org/10.1016/S0735-1097\(01\)01683-7](https://doi.org/10.1016/S0735-1097(01)01683-7).
- Hylckama Vlieg, A. van, I. K. van der Linden, R. M. Bertina, and F. R. Rosendaal. 2000. "High Levels of Factor IX Increase the Risk of Venous Thrombosis." *Blood* 95 (12): 3678–82.
- Ihrle, Rebecca A., Jugal K. Shah, Corey C. Harwell, Jacob H. Levine, Cristina D. Guinto, Melissa Lezameta, Arnold R. Kriegstein, and Arturo Alvarez-Buylla. 2011. "Persistent Sonic Hedgehog Signaling in Adult Brain Determines Neural Stem Cell Positional Identity." *Neuron* 71 (2): 250–62. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.05.018>.
- Ingham, Philip W., and Andrew P. McMahon. 2001. "Hedgehog Signaling in Animal Development: Paradigms and Principles." *Genes & Development* 15 (23): 3059–87. <https://doi.org/10.1101/gad.938601>.
- Isoda, K., Y. Kamezawa, N. Tada, M. Sato, and F. Ohsuzu. 2001. "Myocardial Hypertrophy in Transgenic Mice Overexpressing Human Interleukin 1 α ." *Journal of Cardiac Failure* 7 (4): 355–64. <https://doi.org/10.1054/jcaf.2001.28221>.
- Ito, H., Y. Hirata, M. Hiroe, M. Tsujino, S. Adachi, T. Takamoto, M. Nitta, K. Taniguchi, and F. Marumo. 1991. "Endothelin-1 Induces Hypertrophy with Enhanced Expression of Muscle-Specific Genes in Cultured Neonatal Rat Cardiomyocytes." *Circulation Research* 69 (1): 209–15. <https://doi.org/10.1161/01.res.69.1.209>.
- Iwanaga, Yoshitaka, Isao Nishi, Shinichi Furuichi, Teruo Noguchi, Kazuhiro Sase, Yasuki Kihara, Yoichi Goto, and Hiroshi Nonogi. 2006. "B-Type Natriuretic Peptide Strongly Reflects Diastolic Wall Stress in Patients with Chronic Heart Failure: Comparison between Systolic and Diastolic Heart

- Failure." *Journal of the American College of Cardiology* 47 (4): 742–48. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2005.11.030>.
- Izumiya, Yasuhiro, Ichiro Shiojima, Kaori Sato, Douglas B. Sawyer, Wilson S. Colucci, and Kenneth Walsh. 2006. "Vascular Endothelial Growth Factor Blockade Promotes the Transition From Compensatory Cardiac Hypertrophy to Failure in Response to Pressure Overload." *Hypertension* 47 (5): 887–93. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000215207.54689.31>.
- Izzi, Luisa, Martin Lévesque, Steves Morin, Dominique Laniel, Brian C. Wilkes, Frédéric Mille, Robert S. Krauss, Andrew P. McMahon, Benjamin L. Allen, and Frédéric Charron. 2011. "Boc and Gas1 Each Form Distinct Shh Receptor Complexes with Ptch1 and Are Required for Shh-Mediated Cell Proliferation." *Developmental Cell* 20 (6): 788–801. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2011.04.017>.
- Izzo, Joseph L. 2004. "Arterial Stiffness and the Systolic Hypertension Syndrome." *Current Opinion in Cardiology* 19 (4): 341–52. <https://doi.org/10.1097/01.hco.0000126581.89648.10>.
- Jaba, Irina M., Zhen W. Zhuang, Na Li, Yifeng Jiang, Kathleen A. Martin, Albert J. Sinusas, Xenophon Papademetris, et al. 2013. "NO Triggers RGS4 Degradation to Coordinate Angiogenesis and Cardiomyocyte Growth." *The Journal of Clinical Investigation* 123 (4): 1718–31. <https://doi.org/10.1172/JCI65112>.
- Jabati, Sallu, Jawed Fareed, Jeffrey Liles, Abigail Otto, Debra Hoppensteadt, Jack Bontekoe, Trung Phan, Amanda Walborn, and Mushabbar Syed. 2018. "Biomarkers of Inflammation, Thrombogenesis, and Collagen Turnover in Patients With Atrial Fibrillation." *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis* 24 (5): 718–23. <https://doi.org/10.1177/1076029618761006>.
- Jafri, S. M. 1997. "Hypercoagulability in Heart Failure." *Seminars in Thrombosis and Hemostasis* 23 (6): 543–45. <https://doi.org/10.1055/s-2007-996133>.
- Jaisson, Stéphane, and Philippe Gillery. 2018. "Les produits de glycation avancée des protéines." *Revue Francophone des Laboratoires, Les marqueurs des complications des diabètes*, 2018 (502): 48–55. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(18\)30148-5](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(18)30148-5).
- Jansson, J.-H., B. Johansson, K. Boman, and T. K. Nilsson. 1991. "Hypofibrinolysis in Patients with Hypertension and Elevated Cholesterol." *Journal of Internal Medicine* 229 (4): 309–16. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2796.1991.tb00352.x>.
- Januzzi, James L., Javed Butler, Faiez Zannad, Gerasimos Filippatos, João Pedro Ferreira, Stuart J. Pocock, Naveed Sattar, et al. 2022. "Prognostic Implications of N-Terminal Pro-B-Type Natriuretic Peptide and High-Sensitivity Cardiac Troponin T in EMPEROR-Preserved." *JACC: Heart Failure* 10 (7): 512–24. <https://doi.org/10.1016/j.jchf.2022.05.004>.
- Januzzi, James L., Milton Packer, Brian Claggett, Jiankang Liu, Amil M. Shah, Michael R. Zile, Burkert Pieske, et al. 2018. "IGFBP7 (Insulin-Like Growth Factor–Binding Protein-7) and Nephilysin Inhibition in Patients With Heart Failure." *Circulation: Heart Failure* 11 (10): e005133. <https://doi.org/10.1161/CIRCHEARTFAILURE.118.005133>.
- Jasinska-Piadlo, Alicja, and Patricia Campbell. 2023. "Management of Patients with Heart Failure and Preserved Ejection Fraction." *Heart*, March. <https://doi.org/10.1136/heartjnl-2022-321097>.
- Jeong, Juhee, and Andrew P. McMahon. 2002. "Cholesterol Modification of Hedgehog Family Proteins." *The Journal of Clinical Investigation* 110 (5): 591–96. <https://doi.org/10.1172/JCI16506>.
- Jeong, Myong-Ho, Hyun-Ji Kim, Jung-Hoon Pyun, Kyu-Sil Choi, Dong I. Lee, Soroosh Solhjoo, Brian O'Rourke, et al. 2017. "Cdon Deficiency Causes Cardiac Remodeling through Hyperactivation of WNT/ β -Catenin Signaling." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 114 (8): E1345–54. <https://doi.org/10.1073/pnas.1615105114>.
- Jeong, Myong-Ho, Young-Eun Leem, Hyun-Ji Kim, Kyungjin Kang, Hana Cho, and Jong-Sun Kang. 2016. "A Shh Coreceptor Cdo Is Required for Efficient Cardiomyogenesis of Pluripotent Stem Cells." *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 93 (April): 57–66. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2016.01.013>.
- Jia, Li-Xin, Guan-Ming Qi, Ou Liu, Tao-Tao Li, Min Yang, Wei Cui, Wen-Mei Zhang, Yong-Fen Qi, and Jie Du. 2013. "Inhibition of Platelet Activation by Clopidogrel Prevents Hypertension-Induced

- Cardiac Inflammation and Fibrosis." *Cardiovascular Drugs and Therapy* 27 (6): 521–30. <https://doi.org/10.1007/s10557-013-6471-z>.
- Jiang, Yiyang, Thomas L. Benz, and Stephen B. Long. 2021. "Substrate and Product Complexes Reveal Mechanisms of Hedgehog Acylation by HHAT." *Science (New York, N.Y.)* 372 (6547): 1215–19. <https://doi.org/10.1126/science.abg4998>.
- Jin, Xuanyi, Chung-Lieh Hung, Wan Ting Tay, Dinna Soon, David Sim, Kuo-Tzu Sung, Seet Yoong Loh, et al. 2022. "Epicardial Adipose Tissue Related to Left Atrial and Ventricular Function in Heart Failure with Preserved versus Reduced and Mildly Reduced Ejection Fraction." *European Journal of Heart Failure* 24 (8): 1346–56. <https://doi.org/10.1002/ejhf.2513>.
- Jin, Yongmin, Nataly Raviv, Austin Barnett, Nicholas C. Bambakidis, Emily Filichia, and Yu Luo. 2015. "The Shh Signaling Pathway Is Upregulated in Multiple Cell Types in Cortical Ischemia and Influences the Outcome of Stroke in an Animal Model." *PloS One* 10 (4): e0124657. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0124657>.
- Johnson, M., E. Ramey, and P. W. Ramwell. 1975. "Sex and Age Differences in Human Platelet Aggregation." *Nature* 253 (5490): 355–57. <https://doi.org/10.1038/253355a0>.
- Jones, Edith, E. Benjamin Randall, Scott L. Hummel, David M. Cameron, Daniel A. Beard, and Brian E. Carlson. 2021. "Phenotyping Heart Failure Using Model-Based Analysis and Physiology-Informed Machine Learning." *The Journal of Physiology* 599 (22): 4991–5013. <https://doi.org/10.1113/JP281845>.
- Jorgensen, Ashton N., Chowdhury S. Abdullah, Md Shenuarin Bhuiyan, Megan Watt, Paari Dominic, Gopi K. Kolluru, Christopher G. Kevil, and Hyung W. Nam. 2022. "Neurogranin Regulates Calcium-Dependent Cardiac Hypertrophy." *Experimental and Molecular Pathology* 127 (August): 104815. <https://doi.org/10.1016/j.yexmp.2022.104815>.
- Judd, Eric, and David A. Calhoun. 2015. "Management of Hypertension in CKD: Beyond the Guidelines." *Advances in Chronic Kidney Disease* 22 (2): 116–22. <https://doi.org/10.1053/j.ackd.2014.12.001>.
- Jug, Borut, Nina Vene, Barbara Guzic Salobir, Miran Sebestjen, Miso Sabovic, and Irena Keber. 2009. "Procoagulant State in Heart Failure with Preserved Left Ventricular Ejection Fraction." *International Heart Journal* 50 (5): 591–600. <https://doi.org/10.1536/ihj.50.591>.
- Juhan-Vague, I., J. F. Renucci, M. Grimaux, P. E. Morange, J. Gouvernet, Y. Gourmelin, and M. C. Alessi. 2000. "Thrombin-Activatable Fibrinolysis Inhibitor Antigen Levels and Cardiovascular Risk Factors." *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 20 (9): 2156–61. <https://doi.org/10.1161/01.ATV.20.9.2156>.
- Juhlin, Tord, Bo A. G. Jönsson, and Peter Höglund. 2008. "Renal Effects of Aspirin Are Clearly Dose-Dependent and Are of Clinical Importance from a Dose of 160 Mg." *European Journal of Heart Failure* 10 (9): 892–98. <https://doi.org/10.1016/j.ejheart.2008.06.014>.
- Jung, Richard G., Pouya Motazedian, F. Daniel Ramirez, Trevor Simard, Pietro Di Santo, Sarah Visintini, Mohammad Ali Faraz, Alisha Labinaz, Young Jung, and Benjamin Hibbert. 2018. "Association between Plasminogen Activator Inhibitor-1 and Cardiovascular Events: A Systematic Review and Meta-Analysis." *Thrombosis Journal* 16: 12. <https://doi.org/10.1186/s12959-018-0166-4>.
- Kado, S., T. Nagase, and N. Nagata. 1999. "Circulating Levels of Interleukin-6, Its Soluble Receptor and Interleukin-6/Interleukin-6 Receptor Complexes in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus." *Acta Diabetologica* 36 (1–2): 67–72. <https://doi.org/10.1007/s005920050147>.
- Kadry, Karim, Stamatia Pagoulatou, Quentin Mercier, Georgios Rovas, Vasiliki Bikia, Hajo Müller, Dionysios Adamopoulos, and Nikolaos Stergiopoulos. 2020. "Biomechanics of Diastolic Dysfunction: A One-Dimensional Computational Modeling Approach." *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 319 (4): H882–92. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00172.2020>.
- Kagawa, Hiroki, Yuka Shino, Daigo Kobayashi, Syunsuke Demizu, Masumi Shimada, Hiroyoshi Ariga, and Hiroyuki Kawahara. 2011. "A Novel Signaling Pathway Mediated by the Nuclear Targeting of C-Terminal Fragments of Mammalian Patched 1." *PloS One* 6 (4): e18638. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0018638>.

- Kahles, H., V. A. Mezger, G. Hellige, P. G. Spieckermann, and H. J. Bretschneider. 1982. "The Influence of Myocardial Edema Formation on the Energy Consumption of the Heart during Aerobiosis and Hypoxia." *Basic Research in Cardiology* 77 (2): 158–69. <https://doi.org/10.1007/BF01908169>.
- Kalantar-Zadeh, Kamyar, Tazeen H Jafar, Dorothea Nitsch, Brendon L Neuen, and Vlado Perkovic. 2021. "Chronic Kidney Disease." *The Lancet* 398 (10302): 786–802. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)00519-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00519-5).
- Kamath, S., B. S. P. Chin, A. D. Blann, and G. Y. H. Lip. 2002. "A Study of Platelet Activation in Paroxysmal, Persistent and Permanent Atrial Fibrillation." *Blood Coagulation & Fibrinolysis* 13 (7): 627.
- Kanagala, Prathap, Jayanth R. Arnold, Jamal N. Khan, Anvesha Singh, Gaurav S. Gulsin, Iain B. Squire, Gerry P. McCann, and Leong L. Ng. 2021. "Plasma P-Selectin Is a Predictor of Mortality in Heart Failure with Preserved Ejection Fraction." *ESC Heart Failure* 8 (3): 2328–33. <https://doi.org/10.1002/ehf2.13280>.
- Kanaide, Hideo, Toshihiro Ichiki, Junji Nishimura, and Katsuya Hirano. 2003. "Cellular Mechanism of Vasoconstriction Induced by Angiotensin II." *Circulation Research* 93 (11): 1015–17. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000105920.33926.60>.
- Kanda, Shigeru, Yasushi Mochizuki, Takashi Suematsu, Yasuyoshi Miyata, Koichiro Nomata, and Hiroshi Kanetake. 2003. "Sonic Hedgehog Induces Capillary Morphogenesis by Endothelial Cells through Phosphoinositide 3-Kinase." *The Journal of Biological Chemistry* 278 (10): 8244–49. <https://doi.org/10.1074/jbc.M210635200>.
- Kang, J. S., M. Gao, J. L. Feinleib, P. D. Cotter, S. N. Guadagno, and R. S. Krauss. 1997. "CDO: An Oncogene-, Serum-, and Anchorage-Regulated Member of the Ig/Fibronectin Type III Repeat Family." *The Journal of Cell Biology* 138 (1): 203–13. <https://doi.org/10.1083/jcb.138.1.203>.
- Kang, Jong-Sun, Philip J. Mulieri, Yulan Hu, Lavinia Taliana, and Robert S. Krauss. 2002. "BOC, an Ig Superfamily Member, Associates with CDO to Positively Regulate Myogenic Differentiation." *The EMBO Journal* 21 (1–2): 114–24. <https://doi.org/10.1093/emboj/21.1.114>.
- Kapoor, John R., and Paul A. Heidenreich. 2010. "Obesity and Survival in Patients with Heart Failure and Preserved Systolic Function: A U-Shaped Relationship." *American Heart Journal* 159 (1): 75–80. <https://doi.org/10.1016/j.ahj.2009.10.026>.
- Kapoor, Sargam, Aman Opneja, and Lalitha Nayak. 2018. "The Role of Neutrophils in Thrombosis." *Thrombosis Research* 170 (October): 87–96. <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2018.08.005>.
- Karatela, R. A., and G. S. Sainani. 2009. "Interrelationship between Coagulation Factor VII and Obesity in Diabetes Mellitus (Type 2)." *Diabetes Research and Clinical Practice* 84 (3): e41–44. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2009.02.018>.
- Kasjanovová, D., and V. Baláz. 1986. "Age-Related Changes in Human Platelet Function in Vitro." *Mechanisms of Ageing and Development* 37 (2): 175–82. [https://doi.org/10.1016/0047-6374\(86\)90074-6](https://doi.org/10.1016/0047-6374(86)90074-6).
- Kasner, Mario, Dirk Westermann, Begoña Lopez, Regina Gaub, Felicitas Escher, Uwe Kühl, Heinz-Peter Schultheiss, and Carsten Tschöpe. 2011. "Diastolic Tissue Doppler Indexes Correlate with the Degree of Collagen Expression and Cross-Linking in Heart Failure and Normal Ejection Fraction." *Journal of the American College of Cardiology* 57 (8): 977–85. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2010.10.024>.
- Kato, Shingo, Naka Saito, Hidekuni Kirigaya, Daiki Gyotoku, Naoki Iinuma, Yuka Kusakawa, Kohei Iguchi, et al. 2016. "Impairment of Coronary Flow Reserve Evaluated by Phase Contrast Cine-Magnetic Resonance Imaging in Patients With Heart Failure With Preserved Ejection Fraction." *Journal of the American Heart Association* 5 (2): e002649. <https://doi.org/10.1161/JAHA.115.002649>.
- Katoh, Yuriko, and Masaru Katoh. 2006. "Comparative Genomics on HHIP Family Orthologs." *International Journal of Molecular Medicine* 17 (2): 391–95. <https://doi.org/10.3892/ijmm.17.2.391>.

- Katz, Arnold M. 2010. *Physiology of the Heart*. Lippincott Williams & Wilkins.
- Kevil, C. G., N. Okayama, S. D. Trocha, T. J. Kalogeris, L. L. Coe, R. D. Specian, C. P. Davis, and J. S. Alexander. 1998. "Expression of Zonula Occludens and Adherens Junctional Proteins in Human Venous and Arterial Endothelial Cells: Role of Occludin in Endothelial Solute Barriers." *Microcirculation (New York, N.Y.: 1994)* 5 (2–3): 197–210.
- Kim, Dong-Jin, Jun Mo Kang, Seon Hwa Park, Hyuk-Kwon Kwon, Seok-Jong Song, Haena Moon, Su-Mi Kim, et al. 2017. "Diabetes Aggravates Post-Ischaemic Renal Fibrosis through Persistent Activation of TGF- β 1 and Shh Signalling." *Scientific Reports* 7 (1): 16782. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-16977-z>.
- King, Aileen J. F. 2012. "The Use of Animal Models in Diabetes Research." *British Journal of Pharmacology* 166 (3): 877–94. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2012.01911.x>.
- Kistorp, Caroline, Jens Faber, Søren Galatius, Finn Gustafsson, Jan Frydystyk, Allan Flyvbjerg, and Per Hildebrandt. 2005. "Plasma Adiponectin, Body Mass Index, and Mortality in Patients with Chronic Heart Failure." *Circulation* 112 (12): 1756–62. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.104.530972>.
- Kivelä, Riikka, Karthik Amudhala Hemanthakumar, Katri Vaparanta, Marius Robciuc, Yasuhiro Izumiya, Hiroyasu Kidoya, Nobuyuki Takakura, et al. 2019. "Endothelial Cells Regulate Physiological Cardiomyocyte Growth via VEGFR2-Mediated Paracrine Signaling." *Circulation* 139 (22): 2570–84. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.118.036099>.
- Klabunde, Richard. 2011. *Cardiovascular Physiology Concepts*. Lippincott Williams & Wilkins.
- Kleber, Marcus E., Lorenz Koller, Georg Goliash, Patrick Sulzgruber, Hubert Scharnagl, Günther Silbernagel, Tanja B. Grammer, et al. 2015a. "Von Willebrand Factor Improves Risk Prediction in Addition to N-Terminal pro-B-Type Natriuretic Peptide in Patients Referred to Coronary Angiography and Signs and Symptoms of Heart Failure and Preserved Ejection Fraction." *Circulation. Heart Failure* 8 (1): 25–32. <https://doi.org/10.1161/CIRCHEARTFAILURE.114.001478>.
- Kleinz, Matthias J., Jeremy N. Skepper, and Anthony P. Davenport. 2005. "Immunocytochemical Localisation of the Apelin Receptor, APJ, to Human Cardiomyocytes, Vascular Smooth Muscle and Endothelial Cells." *Regulatory Peptides* 126 (3): 233–40. <https://doi.org/10.1016/j.regpep.2004.10.019>.
- Kobak, Kamil Aleksander, Weronika Zarzycka, and Ying Ann Chiao. 2022. "Age and Sex Differences in Heart Failure With Preserved Ejection Fraction." *Frontiers in Aging* 3. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fragi.2022.811436>.
- Kogerman, Priit, Darren Krause, Fahimeh Rahnama, Lembi Kogerman, Anne Birgitte Undén, Peter G. Zaphiropoulos, and Rune Toftgård. 2002. "Alternative First Exons of PTCH1 Are Differentially Regulated in Vivo and May Confer Different Functions to the PTCH1 Protein." *Oncogene* 21 (39): 6007–16. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1205865>.
- Kojda, Georg, and Karin Kottenberg. 1999. "Regulation of Basal Myocardial Function by NO." *Cardiovascular Research* 41 (3): 514–23. [https://doi.org/10.1016/S0008-6363\(98\)00314-9](https://doi.org/10.1016/S0008-6363(98)00314-9).
- Komajda, Michel, Richard Isnard, Alain Cohen-Solal, Marco Metra, Burkert Pieske, Piotr Ponikowski, Adriaan A. Voors, et al. 2017. "Effect of Ivabradine in Patients with Heart Failure with Preserved Ejection Fraction: The EDIFY Randomized Placebo-Controlled Trial." *European Journal of Heart Failure* 19 (11): 1495–1503. <https://doi.org/10.1002/ejhf.876>.
- Kopp, Christoph W., Hans-Peter Kopp, Sabine Steiner, Stephan Kriwanek, Katarzyna Krzyzanowska, Andrea Bartok, Rudolf Roka, Erich Minar, and Guntram Schernthaner. 2003. "Weight Loss Reduces Tissue Factor in Morbidly Obese Patients." *Obesity Research* 11 (8): 950–56. <https://doi.org/10.1038/oby.2003.131>.
- Koser, Franziska, Christine Loescher, and Wolfgang A. Linke. 2019. "Posttranslational Modifications of Titin from Cardiac Muscle: How, Where, and What For?" *The Febs Journal* 286 (12): 2240–60. <https://doi.org/10.1111/febs.14854>.

- Kosiborod, Mikhail N., Steen Z. Abildstrøm, Barry A. Borlaug, Javed Butler, Søren Rasmussen, Melanie Davies, G. Kees Hovingh, et al. 2023. "Semaglutide in Patients with Heart Failure with Preserved Ejection Fraction and Obesity." *New England Journal of Medicine* 0 (0): null. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2306963>.
- Koster, Nancy K., Yeruva Madhu Reddy, Susan M. Schima, and Nathan J. Almeida. 2010. "Gender-Specific Echocardiographic Findings in Nonagenarians with Cardiovascular Disease." *The American Journal of Cardiology* 105 (2): 273–76. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2009.08.678>.
- Kotecha, Dipak, Rajiv Chudasama, Deirdre A. Lane, Paulus Kirchhof, and Gregory Y. H. Lip. 2016. "Atrial Fibrillation and Heart Failure Due to Reduced versus Preserved Ejection Fraction: A Systematic Review and Meta-Analysis of Death and Adverse Outcomes." *International Journal of Cardiology* 203 (January): 660–66. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2015.10.220>.
- Kötter, Sebastian, Laurence Gout, Marion Von Frieling-Salewsky, Anna Eliane Müller, Stefan Helling, Katrin Marcus, Cristobal Dos Remedios, Wolfgang A. Linke, and Martina Krüger. 2013. "Differential Changes in Titin Domain Phosphorylation Increase Myofilament Stiffness in Failing Human Hearts." *Cardiovascular Research* 99 (4): 648–56. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvt144>.
- Koutroumpakis, Efstratios, Ramanjit Kaur, Heinrich Taegtmeier, and Anita Deswal. 2021. "Obesity and Heart Failure with Preserved Ejection Fraction." *Heart Failure Clinics* 17 (3): 345–56. <https://doi.org/10.1016/j.hfc.2021.02.003>.
- Kowatsch, Christiane, Rachel E. Woolley, Maia Kinnebrew, Rajat Rohatgi, and Christian Siebold. 2019. "Structures of Vertebrate Patched and Smoothed Reveal Intimate Links between Cholesterol and Hedgehog Signalling." *Current Opinion in Structural Biology* 57 (June): 204–14. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2019.05.015>.
- Kristensen, Søren L., Ulrik M. Mogensen, Pardeep S. Jhund, Mark C. Petrie, David Preiss, Sithu Win, Lars Køber, et al. 2017. "Clinical and Echocardiographic Characteristics and Cardiovascular Outcomes According to Diabetes Status in Patients With Heart Failure and Preserved Ejection Fraction: A Report From the I-Preserve Trial (Irbesartan in Heart Failure With Preserved Ejection Fraction)." *Circulation* 135 (8): 724–35. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.116.024593>.
- Krüger, Martina, Sebastian Kötter, Anika Grützner, Patrick Lang, Christian Andresen, Margaret M. Redfield, Elke Butt, Cris G. dos Remedios, and Wolfgang A. Linke. 2009. "Protein Kinase G Modulates Human Myocardial Passive Stiffness by Phosphorylation of the Titin Springs." *Circulation Research* 104 (1): 87–94. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.108.184408>.
- Krumholz, H. M., M. Larson, and D. Levy. 1993. "Sex Differences in Cardiac Adaptation to Isolated Systolic Hypertension." *The American Journal of Cardiology* 72 (3): 310–13. [https://doi.org/10.1016/0002-9149\(93\)90678-6](https://doi.org/10.1016/0002-9149(93)90678-6).
- Kubo, Makoto, Masafumi Nakamura, Akira Tasaki, Naoki Yamanaka, Hiroshi Nakashima, Masatoshi Nomura, Syoji Kuroki, and Mitsuo Katano. 2004. "Hedgehog Signaling Pathway Is a New Therapeutic Target for Patients with Breast Cancer." *Cancer Research* 64 (17): 6071–74. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-04-0416>.
- Kurachi, Kotoku, and Sumiko Kurachi. 2000. "Genetic Mechanisms of Age Regulation of Blood Coagulation." *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 20 (4): 902–6. <https://doi.org/10.1161/01.ATV.20.4.902>.
- Kurachi, S., E. Hitomi, and K. Kurachi. 1996. "Age and Sex Dependent Regulation of the Factor IX Gene in Mice." *Thrombosis and Haemostasis* 76 (12): 965–69. <https://doi.org/10.1055/s-0038-1650693>.
- Kurmani, Sameer, and Iain Squire. 2017. "Acute Heart Failure: Definition, Classification and Epidemiology." *Current Heart Failure Reports* 14 (5): 385–92. <https://doi.org/10.1007/s11897-017-0351-y>.

- Kusano, Kengo F., Roberto Pola, Toshinori Murayama, Cynthia Curry, Atsuhiko Kawamoto, Atsushi Iwakura, Satoshi Shintani, et al. 2005. "Sonic Hedgehog Myocardial Gene Therapy: Tissue Repair through Transient Reconstitution of Embryonic Signaling." *Nature Medicine* 11 (11): 1197–1204. <https://doi.org/10.1038/nm1313>.
- Kwong, Lina, Maarten F. Bijlsma, and Henk Roelink. 2014a. "Shh-Mediated Degradation of Hhip Allows Cell Autonomous and Non-Cell Autonomous Shh Signaling." *Nature Communications* 5 (September): 4849. <https://doi.org/10.1038/ncomms5849>.
- Lam, Carolyn S. P., Greg D. Gamble, Lieng H. Ling, David Sim, Kui Toh Gerard Leong, Poh Shuan Daniel Yeo, Hean Yee Ong, et al. 2018. "Mortality Associated with Heart Failure with Preserved vs. Reduced Ejection Fraction in a Prospective International Multi-Ethnic Cohort Study." *European Heart Journal* 39 (20): 1770–80. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehy005>.
- Lambeth, J. David. 2004. "NOX Enzymes and the Biology of Reactive Oxygen." *Nature Reviews Immunology* 4 (3): 181–89. <https://doi.org/10.1038/nri1312>.
- Landstrom, Andrew P., Dobromir Dobrev, and Xander H.T. Wehrens. 2017. "Calcium Signaling and Cardiac Arrhythmias." *Circulation Research* 120 (12): 1969–93. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.117.310083>.
- Lanza, Gaetano A., Stefano Figliozzi, and Rossella Parrinello. 2015. "Physiology and Pathophysiology of Coronary Circulation." In *PanVascular Medicine*, edited by Peter Lanzer, 1789–1809. Berlin, Heidelberg: Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-642-37078-6_58.
- Lau, J., H. Kawahira, and M. Hebrok. 2006. "Hedgehog Signaling in Pancreas Development and Disease." *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS* 63 (6): 642–52. <https://doi.org/10.1007/s00018-005-5357-z>.
- Lavallée, M., M. Takamura, R. Parent, and E. Thorin. 2001. "Crosstalk between Endothelin and Nitric Oxide in the Control of Vascular Tone." *Heart Failure Reviews* 6 (4): 265–76. <https://doi.org/10.1023/a:1011448007222>.
- Lavine, Kory J., Fanxin Long, Kyunghye Choi, Craig Smith, and David M. Ornitz. 2008. "Hedgehog Signaling to Distinct Cell Types Differentially Regulates Coronary Artery and Vein Development." *Development (Cambridge, England)* 135 (18): 3161–71. <https://doi.org/10.1242/dev.019919>.
- Lavine, Kory J., Andrew C. White, Changwon Park, Craig S. Smith, Kyunghye Choi, Fanxin Long, Chichung Hui, and David M. Ornitz. 2006. "Fibroblast Growth Factor Signals Regulate a Wave of Hedgehog Activation That Is Essential for Coronary Vascular Development." *Genes & Development* 20 (12): 1651–66. <https://doi.org/10.1101/gad.1411406>.
- Lee, J. J., S. C. Ekker, D. P. von Kessler, J. A. Porter, B. I. Sun, and P. A. Beachy. 1994. "Autoproteolysis in Hedgehog Protein Biogenesis." *Science (New York, N.Y.)* 266 (5190): 1528–37. <https://doi.org/10.1126/science.7985023>.
- Lee, Seung Won, Kyoung Eun Song, Dong Sun Shin, Sung Min Ahn, Eun Suk Ha, Dae Jung Kim, Moon Suk Nam, and Kwan-Woo Lee. 2005. "Alterations in Peripheral Blood Levels of TIMP-1, MMP-2, and MMP-9 in Patients with Type-2 Diabetes." *Diabetes Research and Clinical Practice* 69 (2): 175–79. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2004.12.010>.
- Lefer, D. J., S. P. Jones, W. G. Girod, A. Baines, M. B. Grisham, A. S. Cockrell, P. L. Huang, and R. Scalia. 1999. "Leukocyte-Endothelial Cell Interactions in Nitric Oxide Synthase-Deficient Mice." *The American Journal of Physiology* 276 (6): H1943–1950. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1999.276.6.H1943>.
- Lemkes, B. A., J. Hermanides, J. H. Devries, F. Holleman, J. C. M. Meijers, and J. B. L. Hoekstra. 2010. "Hyperglycemia: A Prothrombotic Factor?" *Journal of Thrombosis and Haemostasis: JTH* 8 (8): 1663–69. <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2010.03910.x>.
- Levy, D., M. G. Larson, R. S. Vasan, W. B. Kannel, and K. K. Ho. 1996. "The Progression from Hypertension to Congestive Heart Failure." *JAMA* 275 (20): 1557–62. [doi:10.1001/jama.1996.03530440037034](https://doi.org/10.1001/jama.1996.03530440037034)

- Levy, P. J., C. Yunis, J. Owen, K. B. Brosnihan, R. Smith, and C. M. Ferrario. 2000. "Inhibition of Platelet Aggregability by Losartan in Essential Hypertension." *The American Journal of Cardiology* 86 (11): 1188–92. [https://doi.org/10.1016/s0002-9149\(00\)01200-5](https://doi.org/10.1016/s0002-9149(00)01200-5).
- Lewington, Sarah, Robert Clarke, Nawab Qizilbash, Richard Peto, Rory Collins, and Prospective Studies Collaboration. 2002. "Age-Specific Relevance of Usual Blood Pressure to Vascular Mortality: A Meta-Analysis of Individual Data for One Million Adults in 61 Prospective Studies." *Lancet (London, England)* 360 (9349): 1903–13. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(02\)11911-8](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(02)11911-8).
- LeWinter, Martin M., and Henk Granzier. 2010. "Cardiac Titin - A Multifunctional Giant." *Circulation* 121 (19): 2137–45. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.109.860171>.
- LeWinter, Martin M., and Henk L. Granzier. 2014. "Cardiac Titin and Heart Disease." *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 63 (3): 207–12. <https://doi.org/10.1097/FJC.0000000000000007>.
- Lewis, M. T., S. Ross, P. A. Strickland, C. W. Sugnet, E. Jimenez, C. Hui, and C. W. Daniel. 2001. "The Gli2 Transcription Factor Is Required for Normal Mouse Mammary Gland Development." *Developmental Biology* 238 (1): 133–44. <https://doi.org/10.1006/dbio.2001.0410>.
- Ley, K., and J. Reutershan. 2006. "Leucocyte-Endothelial Interactions in Health and Disease." *Handbook of Experimental Pharmacology*, no. 176 Pt 2: 97–133. https://doi.org/10.1007/3-540-36028-x_4.
- Ley, Klaus, Carlo Laudanna, Myron I. Cybulsky, and Sussan Nourshargh. 2007. "Getting to the Site of Inflammation: The Leukocyte Adhesion Cascade Updated." *Nature Reviews Immunology* 7 (9): 678–89. <https://doi.org/10.1038/nri2156>.
- Li, Na, Hongjun Bian, Juan Zhang, Xiaoxing Li, Xiaoping Ji, and Yun Zhang. 2010. "The Th17/Treg Imbalance Exists in Patients with Heart Failure with Normal Ejection Fraction and Heart Failure with Reduced Ejection Fraction." *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry* 411 (23–24): 1963–68. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2010.08.013>.
- Li, P., C. M. Ferrario, and K. B. Brosnihan. 1998. "Losartan Inhibits Thromboxane A2-Induced Platelet Aggregation and Vascular Constriction in Spontaneously Hypertensive Rats." *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 32 (2): 198–205. <https://doi.org/10.1097/00005344-199808000-00005>.
- Li, Sheyu, Jia Wei, Chenghui Zhang, Xiaodan Li, Wentong Meng, Xianming Mo, Qianying Zhang, et al. 2016. "Cell-Derived Microparticles in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus: A Systematic Review and Meta-Analysis." *Cellular Physiology and Biochemistry* 39 (6): 2439–50. <https://doi.org/10.1159/000452512>.
- Li, Wanqiu, Linlin Wang, Bradley M. Wierbowski, Mo Lu, Feitong Dong, Wenchen Liu, Sisi Li, Peiyi Wang, Adrian Salic, and Xin Gong. 2021. "Structural Insights into Proteolytic Activation of the Human Dispatched1 Transporter for Hedgehog Morphogen Release." *Nature Communications* 12 (1): 6966. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-27257-w>.
- Li, Yanan, Yuanpeng Xia, Yong Wang, Ling Mao, Yuan Gao, Quanwei He, Ming Huang, Shengcai Chen, and Bo Hu. 2013. "Sonic Hedgehog (Shh) Regulates the Expression of Angiogenic Growth Factors in Oxygen-Glucose-Deprived Astrocytes by Mediating the Nuclear Receptor NR2F2." *Molecular Neurobiology* 47 (3): 967–75. <https://doi.org/10.1007/s12035-013-8395-9>.
- Li, Yanhua, Tian Li, Zhiguang Zhou, and Yang Xiao. 2022. "Emerging Roles of Galectin-3 in Diabetes and Diabetes Complications: A Snapshot." *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders* 23 (3): 569–77. <https://doi.org/10.1007/s11154-021-09704-7>.
- Li, Zongdong, Michael A. Nardi, Yong-Sheng Li, Wei Zhang, Ruimin Pan, Suying Dang, Herman Yee, David Quartermain, Saran Jonas, and Simon Karpatkin. 2009. "C-Terminal ADAMTS-18 Fragment Induces Oxidative Platelet Fragmentation, Dissolves Platelet Aggregates, and Protects against Carotid Artery Occlusion and Cerebral Stroke." *Blood* 113 (24): 6051–60. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-07-170571>.
- Li, Zongdong, Michael Nardi, Ruimin Pan, Herman Yee, and Simon Karpatkin. 2007. "A New Mechanism of Platelet Activation and Oxidative Death Induced by ADAMTS-18 and Regulating Bleeding Time." *Blood* 110 (11): 133. <https://doi.org/10.1182/blood.V110.11.133.133>.

- Lim, Do-Sun, Robert Roberts, and Ali J. Marian. 2001. "Expression Profiling of Cardiac Genes in Human Hypertrophic Cardiomyopathy: Insight Into the Pathogenesis of Phenotypes." *Journal of the American College of Cardiology* 38 (4): 1175–80.
- Lim, Gregory B. 2020. "Complexity and Plasticity of Cardiac Cellular Composition." *Nature Reviews Cardiology* 17 (12): 759–759. <https://doi.org/10.1038/s41569-020-00464-6>.
- Lim, Yizhe, and Joshua Boster. 2022. "Obesity and Comorbid Conditions." In *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK574535/>.
- Lin, H. J., P. A. Wolf, M. Kelly-Hayes, A. S. Beiser, C. S. Kase, E. J. Benjamin, and R. B. D'Agostino. 1996. "Stroke Severity in Atrial Fibrillation. The Framingham Study." *Stroke* 27 (10): 1760–64. <https://doi.org/10.1161/01.str.27.10.1760>.
- Lin, Sensen, Shuying Wan, Li Sun, Jialiang Hu, Dongdong Fang, Renping Zhao, Shengtao Yuan, and Luyong Zhang. 2012. "Chemokine C-C Motif Receptor 5 and C-C Motif Ligand 5 Promote Cancer Cell Migration under Hypoxia." *Cancer Science* 103 (5): 904–12. <https://doi.org/10.1111/j.1349-7006.2012.02259.x>.
- Lindmark, E., T. Tenno, and A. Siegbahn. 2000. "Role of Platelet P-Selectin and CD40 Ligand in the Induction of Monocytic Tissue Factor Expression." *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 20 (10): 2322–28. <https://doi.org/10.1161/01.atv.20.10.2322>.
- Lindström, Per. 2007. "The Physiology of Obese-Hyperglycemic Mice [Ob/Ob Mice]." *The Scientific World Journal* 7 (May): 666–85. <https://doi.org/10.1100/tsw.2007.117>.
- Linke, Wolfgang A., and Nazha Hamdani. 2014. "Gigantic Business." *Circulation Research* 114 (6): 1052–68. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.114.301286>.
- Lip, G. Y., G. D. Lowe, M. J. Metcalfe, A. Rumley, and F. G. Dunn. 1995. "Is Diastolic Dysfunction Associated with Thrombogenesis? A Study of Circulating Markers of a Prothrombotic State in Patients with Coronary Artery Disease." *International Journal of Cardiology* 50 (1): 31–42. [https://doi.org/10.1016/0167-5273\(95\)02327-s](https://doi.org/10.1016/0167-5273(95)02327-s).
- Lip, Gregory Y. H., and Andrew D. Blann. 2000. "Does Hypertension Confer a Prothrombotic State?" *Circulation* 101 (3): 218–20. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.101.3.218>.
- Lip, Gregory Y. H., Robby Nieuwlaat, Ron Pisters, Deirdre A. Lane, and Harry J. G. M. Crijns. 2010. "Refining Clinical Risk Stratification for Predicting Stroke and Thromboembolism in Atrial Fibrillation Using a Novel Risk Factor-Based Approach: The Euro Heart Survey on Atrial Fibrillation." *Chest* 137 (2): 263–72. <https://doi.org/10.1378/chest.09-1584>.
- Li-Saw-Hee, Foo Leong, Andrew D Blann, and Gregory Y. H Lip. 2000. "A Cross-Sectional and Diurnal Study of Thrombogenesis among Patients with Chronic Atrial Fibrillation." *Journal of the American College of Cardiology* 35 (7): 1926–31. [https://doi.org/10.1016/S0735-1097\(00\)00627-6](https://doi.org/10.1016/S0735-1097(00)00627-6).
- Liu, Jie, Tao Zhuang, Jingjiang Pi, Xiaoli Chen, Qi Zhang, Ying Li, Haikun Wang, et al. 2019. "Endothelial Forkhead Box Transcription Factor P1 Regulates Pathological Cardiac Remodeling Through Transforming Growth Factor-B1-Endothelin-1 Signal Pathway." *Circulation* 140 (8): 665–80. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.119.039767>.
- Liu, Wei, Yu Feng, Xuehua Wang, Jiaying Ding, Huili Li, Hongquan Guan, and Zhijian Chen. 2022. "Human Umbilical Vein Endothelial Cells-Derived Exosomes Enhance Cardiac Function after Acute Myocardial Infarction by Activating the PI3K/AKT Signaling Pathway." *Bioengineered* 13 (4): 8850–65. <https://doi.org/10.1080/21655979.2022.2056317>.
- Liu, Xifu, Xinhua Gu, Zhaoming Li, Xinyan Li, Hui Li, Jianjie Chang, Ping Chen, et al. 2006. "Neuregulin-1/erbB-Activation Improves Cardiac Function and Survival in Models of Ischemic, Dilated, and Viral Cardiomyopathy." *Journal of the American College of Cardiology* 48 (7): 1438–47. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2006.05.057>.
- Liu, Xinwen, Huan Wang, Zongjin Li, and Lang Qin. 2021. "Deep Learning in ECG Diagnosis: A Review." *Knowledge-Based Systems* 227 (September): 107187. <https://doi.org/10.1016/j.knosys.2021.107187>.

- Löffler, Adrián I., Jonathan A. Pan, Pelbreton C. Balfour, Peter W. Shaw, Yang Yang, Moiz Nasir, Daniel A. Auger, et al. 2019. "Frequency of Coronary Microvascular Dysfunction and Diffuse Myocardial Fibrosis (Measured by Cardiovascular Magnetic Resonance) in Patients With Heart Failure and Preserved Left Ventricular Ejection Fraction." *The American Journal of Cardiology* 124 (10): 1584–89. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2019.08.011>.
- Long, Linda, Ify R. Mordi, Charlene Bridges, Viral A. Sagar, Edward J. Davies, Andrew JS Coats, Hasnain Dalal, Karen Rees, Sally J. Singh, and Rod S. Taylor. 2019. "Exercise-based Cardiac Rehabilitation for Adults with Heart Failure." *Cochrane Database of Systematic Reviews*, no. 1. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD003331.pub5>.
- Longstaff, Colin, Imre Varjú, Péter Sótónyi, László Szabó, Michael Krumrey, Armin Hoell, Attila Bóta, Zoltán Varga, Erzsébet Komorowicz, and Krasimir Kolev. 2013. "Mechanical Stability and Fibrinolytic Resistance of Clots Containing Fibrin, DNA, and Histones." *The Journal of Biological Chemistry* 288 (10): 6946–56. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.404301>.
- Lopaschuk, Gary D., Clifford D.L. Folmes, and William C. Stanley. 2007. "Cardiac Energy Metabolism in Obesity." *Circulation Research* 101 (4): 335–47. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.107.150417>.
- López-Mejías, Raquel, Alfonso Corrales, Esther Vicente, Montserrat Robustillo-Villarino, Carlos González-Juanatey, Javier Llorca, Fernanda Genre, et al. 2017. "Influence of Coronary Artery Disease and Subclinical Atherosclerosis Related Polymorphisms on the Risk of Atherosclerosis in Rheumatoid Arthritis." *Scientific Reports* 7 (January): 40303. <https://doi.org/10.1038/srep40303>.
- Loskutoff, D. J., K. Fujisawa, and F. Samad. 2000. "The Fat Mouse. A Powerful Genetic Model to Study Hemostatic Gene Expression in Obesity/NIDDM." *Annals of the New York Academy of Sciences* 902 (May): 272–81; discussion 281–282. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2000.tb06322.x>.
- Louch, William E., Karina Hougen, Halvor K. Mørk, Fredrik Swift, Jan M. Aronsen, Ivar Sjaastad, Henrik M. Reims, et al. 2010. "Sodium Accumulation Promotes Diastolic Dysfunction in End-Stage Heart Failure Following Serca2 Knockout." *The Journal of Physiology* 588 (Pt 3): 465–78. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2009.183517>.
- Loungani, Rahul S., John R. Teerlink, Marco Metra, Larry A. Allen, Javed Butler, Peter E. Carson, Chien-Wei Chen, et al. 2020. "Cause of Death in Patients With Acute Heart Failure: Insights From RELAX-AHF-2." *JACC. Heart Failure* 8 (12): 999–1008. <https://doi.org/10.1016/j.jchf.2020.09.010>.
- Low, W. C., C. Wang, Y. Pan, X. Y. Huang, J. K. Chen, and B. Wang. 2008. "The Decoupling of Smoothed from Galphai Proteins Has Little Effect on Gli3 Protein Processing and Hedgehog-Regulated Chick Neural Tube Patterning." *Dev Biol* 321 (1): 188–96. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2008.06.014> S0012-1606(08)01004-X [pii].
- Lu, Huafei, Douglas Kraut, Louis C. Gerstenfeld, and Dana T. Graves. 2003. "Diabetes Interferes with the Bone Formation by Affecting the Expression of Transcription Factors That Regulate Osteoblast Differentiation." *Endocrinology* 144 (1): 346–52. <https://doi.org/10.1210/en.2002-220072>.
- Luca, Carl de, Timothy J. Kowalski, Yiyang Zhang, Joel K. Elmquist, Charlotte Lee, Manfred W. Kilimann, Thomas Ludwig, Shun-Mei Liu, and Streamson C. Chua. 2005. "Complete Rescue of Obesity, Diabetes, and Infertility in Db/Db Mice by Neuron-Specific LEPR-B Transgenes." *Journal of Clinical Investigation* 115 (12): 3484–93. <https://doi.org/10.1172/JCI24059>.
- Luo, Dongling, Yunjiu Cheng, Haifeng Zhang, Mingchuan Ba, Pengyuan Chen, Hezhi Li, Kequan Chen, Weihong Sha, Caojin Zhang, and Hao Chen. 2020. "Association between High Blood Pressure and Long Term Cardiovascular Events in Young Adults: Systematic Review and Meta-Analysis." *BMJ (Clinical Research Ed.)* 370 (September): m3222. <https://doi.org/10.1136/bmj.m3222>.
- Lüscher, T. F., Z. Yang, M. Tschudi, L. von Segesser, P. Stulz, C. Boulanger, R. Siebenmann, M. Turina, and F. R. Bühler. 1990. "Interaction between Endothelin-1 and Endothelium-Derived Relaxing Factor in Human Arteries and Veins." *Circulation Research* 66 (4): 1088–94. <https://doi.org/10.1161/01.res.66.4.1088>.

- Lutsey, P. L., F. L. Norby, A. Alonso, M. Cushman, L. Y. Chen, E. D. Michos, and A. R. Folsom. 2018. "Atrial Fibrillation and Venous Thromboembolism: Evidence of Bidirectionality in the Atherosclerosis Risk in Communities Study." *Journal of Thrombosis and Haemostasis : JTH* 16 (4): 670–79. <https://doi.org/10.1111/jth.13974>.
- Lyle, Melissa A., and Frank V. Brozovich. 2018. "HFpEF, a Disease of the Vasculature: A Closer Look at the Other Half." *Mayo Clinic Proceedings* 93 (9): 1305–14. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2018.05.001>.
- Maaten, Jozine M. ter, Kevin Damman, Marianne C. Verhaar, Walter J. Paulus, Dirk J. Duncker, Caroline Cheng, Loek van Heerebeek, et al. 2016. "Connecting Heart Failure with Preserved Ejection Fraction and Renal Dysfunction: The Role of Endothelial Dysfunction and Inflammation." *European Journal of Heart Failure* 18 (6): 588–98. <https://doi.org/10.1002/ejhf.497>.
- MacDonald, C. J., A. L. Madika, M. Lajous, M. Canonico, A. Fournier, and M. C. Boutron-Ruault. 2021. "Association between Cardiovascular Risk-Factors and Venous Thromboembolism in a Large Longitudinal Study of French Women." *Thrombosis Journal* 19 (1): 58. <https://doi.org/10.1186/s12959-021-00310-w>.
- Maeso-Díaz, Raquel, George D. Dalton, Sehhoon Oh, Kuo Du, Linda Tang, Tianyi Chen, Rajesh K. Dutta, Jessica H. Hartman, Joel N. Meyer, and Anna Mae Diehl. 2022. "Aging Reduces Liver Resiliency by Dysregulating Hedgehog Signaling." *Aging Cell* 21 (2): e13530. <https://doi.org/10.1111/acel.13530>.
- Mahmoodi, Bakhtawar K., Mary Cushman, Inger Anne Næss, Matthew A. Allison, Willem J. Bos, Sigrid K. Brækkan, Suzanne C. Cannegieter, et al. 2017. "Association of Traditional Cardiovascular Risk Factors With Venous Thromboembolism: An Individual Participant Data Meta-Analysis of Prospective Studies." *Circulation* 135 (1): 7–16. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.116.024507>.
- Maizel, Julien, Sandhya Xavier, Jun Chen, Chi Hua Sarah Lin, Radovan Vasko, and Michael S. Goligorsky. 2014a. "Sirtuin 1 Ablation in Endothelial Cells Is Associated with Impaired Angiogenesis and Diastolic Dysfunction." *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology* 307 (12): H1691–1704. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00281.2014>.
- Makarenko, I., C. A. Opitz, M. C. Leake, C. Neagoe, M. Kulke, J. K. Gwathmey, F. del Monte, R. J. Hajjar, and W. A. Linke. 2004. "Passive Stiffness Changes Caused by Upregulation of Compliant Titin Isoforms in Human Dilated Cardiomyopathy Hearts." *Circulation Research* 95 (7): 708–16. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000143901.37063.2f>.
- Mann, Douglas L. 2002. "Inflammatory Mediators and the Failing Heart." *Circulation Research* 91 (11): 988–98. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000043825.01705.1B>.
- Manrique-Acevedo, Camila, Bhavana Chinnakotla, Jaume Padilla, Luis A. Martinez-Lemus, and David Gozal. 2020. "Obesity and Cardiovascular Disease in Women." *International Journal of Obesity (2005)* 44 (6): 1210–26. <https://doi.org/10.1038/s41366-020-0548-0>.
- Marcus, A. J., L. B. Safier, K. A. Hajjar, H. L. Ullman, N. Islam, M. J. Broekman, and A. M. Eiroa. 1991. "Inhibition of Platelet Function by an Aspirin-Insensitive Endothelial Cell ADPase. Thromboregulation by Endothelial Cells." *The Journal of Clinical Investigation* 88 (5): 1690–96. <https://doi.org/10.1172/JCI115485>.
- Maréchaux, Sylvestre, Rohan Samson, Eric van Belle, Joke Breyne, Juliette de Monte, Céline Dédrie, Nassim Chebai, et al. 2016. "Vascular and Microvascular Endothelial Function in Heart Failure With Preserved Ejection Fraction." *Journal of Cardiac Failure* 22 (1): 3–11. <https://doi.org/10.1016/j.cardfail.2015.09.003>.
- Mari, D., P. M. Mannucci, R. Coppola, B. Bottasso, K. A. Bauer, and R. D. Rosenberg. 1995. "Hypercoagulability in Centenarians: The Paradox of Successful Aging." *Blood* 85 (11): 3144–49. <https://doi.org/10.1182/blood.V85.11.3144.bloodjournal85113144>;
- Mari, Daniela, Raffaella Coppola, and Rita Provenzano. 2008a. "Hemostasis Factors and Aging." *Experimental Gerontology* 43 (2): 66–73. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2007.06.014>.

- Mari, Daniela, Giulia Ogliari, Davide Castaldi, Giovanni Vitale, Elisa Mariadele Bollini, and Domenico Lio. 2008. "Hemostasis and Ageing." *Immunity & Ageing: I & A* 5 (October): 12. <https://doi.org/10.1186/1742-4933-5-12>.
- Marrachelli, Vannina González, Maria Letizia Mastronardi, Mamadou Sarr, Raffaella Soleti, Daniela Leonetti, María Carmen Martínez, and Ramarosan Andriantsitohaina. 2013. "Sonic Hedgehog Carried by Microparticles Corrects Angiotensin II-Induced Hypertension and Endothelial Dysfunction in Mice." *PLOS ONE* 8 (8): e72861. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072861>.
- Martinod, Kimberly, and Denisa D. Wagner. 2014. "Thrombosis: Tangled up in NETs." *Blood* 123 (18): 2768–76. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-10-463646>.
- Marx, Nikolaus, Armin Imhof, Johannes Froehlich, Laila Siam, Jochen Ittner, Gerhard Wierse, Arnold Schmidt, Winfried Maerz, Vinzenz Hombach, and Wolfgang Koenig. 2003. "Effect of Rosiglitazone Treatment on Soluble CD40L in Patients with Type 2 Diabetes and Coronary Artery Disease." *Circulation* 107 (15): 1954–57. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000069272.06194.91>.
- Massie, Barry M., Peter E. Carson, John J. McMurray, Michel Komajda, Robert McKelvie, Michael R. Zile, Susan Anderson, et al. 2008. "Irbesartan in Patients with Heart Failure and Preserved Ejection Fraction." *The New England Journal of Medicine* 359 (23): 2456–67. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0805450>.
- Massie, Barry M., Joseph F. Collins, Susan E. Ammon, Paul W. Armstrong, John G. F. Cleland, Michael Ezekowitz, Syed M. Jafri, et al. 2009. "Randomized Trial of Warfarin, Aspirin, and Clopidogrel in Patients with Chronic Heart Failure: The Warfarin and Antiplatelet Therapy in Chronic Heart Failure (WATCH) Trial." *Circulation* 119 (12): 1616–24. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.108.801753>.
- Massie, Barry M., Jeanenne J. Nelson, Mary Ann Lukas, Barry Greenberg, Michael B. Fowler, Edward M. Gilbert, William T. Abraham, Sandra R. Lottes, Joseph A. Franciosa, and COHERE Participant Physicians. 2007. "Comparison of Outcomes and Usefulness of Carvedilol across a Spectrum of Left Ventricular Ejection Fractions in Patients with Heart Failure in Clinical Practice." *The American Journal of Cardiology* 99 (9): 1263–68. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2006.12.056>.
- Mastronardi, Fabrizio G., Luis A. G. daCruz, Huimin Wang, Joan Boggs, and Mario A. Moscarello. 2003. "The Amount of Sonic Hedgehog in Multiple Sclerosis White Matter Is Decreased and Cleavage to the Signaling Peptide Is Deficient." *Multiple Sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)* 9 (4): 362–71. <https://doi.org/10.1191/1352458503ms924oa>.
- Matsubara, Junichi, Seigo Sugiyama, Toshimitsu Nozaki, Koichi Sugamura, Masaaki Konishi, Keisuke Ohba, Yasushi Matsuzawa, et al. 2011. "Pentraxin 3 Is a New Inflammatory Marker Correlated with Left Ventricular Diastolic Dysfunction and Heart Failure with Normal Ejection Fraction." *Journal of the American College of Cardiology* 57 (7): 861–69. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2010.10.018>.
- Matsui, H., Y. Ihara, Y. Fujio, K. Kunisada, S. Akira, T. Kishimoto, and K. Yamauchi-Takahara. 1999. "Induction of Interleukin (IL)-6 by Hypoxia Is Mediated by Nuclear Factor (NF)-Kappa B and NF-IL6 in Cardiac Myocytes." *Cardiovascular Research* 42 (1): 104–12. [https://doi.org/10.1016/s0008-6363\(98\)00285-5](https://doi.org/10.1016/s0008-6363(98)00285-5).
- Maugeri, N., M. Brambilla, M. Camera, A. Carbone, E. Tremoli, M. B. Donati, G. de Gaetano, and C. Cerletti. 2006. "Human Polymorphonuclear Leukocytes Produce and Express Functional Tissue Factor upon Stimulation." *Journal of Thrombosis and Haemostasis: JTH* 4 (6): 1323–30. <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2006.01968.x>.
- Mazurek, T., L. Zhang, A. Zalewski, J.D. Mannion, J.T. Diehl, H. Arafat, L. Sarov-Blat, et al. 2003. "Human Epicardial Adipose Tissue Is a Source of Inflammatory Mediators." *Circulation* 108 (20): 2460–66. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000099542.57313.C5>.

- Mazzoccoli, Gianluigi, Massimiliano Copetti, Mariangela Pia Dagostino, Massimo Grilli, Andrea Fontana, Fabio Pellegrini, and Antonio Greco. 2012. "Epicardial Adipose Tissue and Idiopathic Deep Venous Thrombosis: An Association Study." *Atherosclerosis* 223 (2): 378–83. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2012.05.033>.
- McDonagh, Theresa A, Marco Metra, Marianna Adamo, Roy S Gardner, Andreas Baumback, Michael Böhm, Haran Burri, et al. 2021. "2021 ESC Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure." *European Heart Journal* 42 (36): 3599–3726. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehab368>.
- McFadyen, James D., Mathieu Schaff, and Karlheinz Peter. 2018. "Current and Future Antiplatelet Therapies: Emphasis on Preserving Haemostasis." *Nature Reviews Cardiology* 15 (3): 181–91. <https://doi.org/10.1038/nrcardio.2017.206>.
- McHugh, Kelly, Adam D. DeVore, Jingjing Wu, Roland A. Matsouaka, Gregg C. Fonarow, Paul A. Heidenreich, Clyde W. Yancy, Jennifer B. Green, Natasha Altman, and Adrian F. Hernandez. 2019. "Heart Failure With Preserved Ejection Fraction and Diabetes: JACC State-of-the-Art Review." *Journal of the American College of Cardiology* 73 (5): 602–11. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2018.11.033>.
- McRae, Simon. 2011. "Physiological Haemostasis." In *Mechanisms of Vascular Disease: A Reference Book for Vascular Specialists*, edited by Robert Fitridge and Matthew Thompson. Adelaide (AU): University of Adelaide Press. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK534253/>.
- Meade, T. W., W. R. North, R. Chakrabarti, A. P. Haines, and Y. Stirling. 1977. "Population-Based Distributions of Haemostatic Variables." *British Medical Bulletin* 33 (3): 283–88. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.bmb.a071448>.
- Megens, Remco T. A., Santosh Vijayan, Dirk Lievens, Yvonne Döring, Marc A. M. J. van Zandvoort, Jochen Grommes, Christian Weber, and Oliver Soehnlein. 2012. "Presence of Luminal Neutrophil Extracellular Traps in Atherosclerosis." *Thrombosis and Haemostasis* 107 (3): 597–98. <https://doi.org/10.1160/TH11-09-0650>.
- Mehta, Dolly, and Asrar B. Malik. 2006. "Signaling Mechanisms Regulating Endothelial Permeability." *Physiological Reviews* 86 (1): 279–367. <https://doi.org/10.1152/physrev.00012.2005>.
- Meigs, James B., Christopher J. O'Donnell, Geoffrey H. Tofler, Emelia J. Benjamin, Caroline S. Fox, Izabela Lipinska, David M. Nathan, Lisa M. Sullivan, Ralph B. D'Agostino, and Peter W.F. Wilson. 2006. "Hemostatic Markers of Endothelial Dysfunction and Risk of Incident Type 2 Diabetes: The Framingham Offspring Study." *Diabetes* 55 (2): 530–37. <https://doi.org/10.2337/diabetes.55.02.06.db05-1041>.
- Mendez Fernandez, Ana Belen, Andreu Ferrero-Gregori, Alvaro Garcia-Osuna, Sonia Mirabet-Perez, Maria Jose Pirla-Buxo, Juan Cinca-Cuscullola, Jordi Ordonez-Llanos, and Eulàlia Roig Minguell. 2020. "Growth Differentiation Factor 15 as Mortality Predictor in Heart Failure Patients with Non-Reduced Ejection Fraction." *ESC Heart Failure* 7 (5): 2223–29. <https://doi.org/10.1002/ehf2.12621>.
- Menke, Jan, Lars Lüthje, Andreas Kastrup, and Jörg Larsen. 2010. "Thromboembolism in Atrial Fibrillation." *The American Journal of Cardiology* 105 (4): 502–10. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2009.10.018>.
- Mesquita, Thassio, Yen-Nien Lin, and Ahmed Ibrahim. 2021. "Chronic Low-grade Inflammation in Heart Failure with Preserved Ejection Fraction." *Aging Cell* 20 (9): e13453. <https://doi.org/10.1111/acel.13453>.
- Methawasin, Mei, Kirk R. Hutchinson, Eun-Jeong Lee, John E. Smith, Chandra Saripalli, Carlos G. Hidalgo, Coen A. C. Ottenheijm, and Henk Granzier. 2014. "Experimentally Increasing Titin Compliance in a Novel Mouse Model Attenuates the Frank-Starling Mechanism but Has a Beneficial Effect on Diastole." *Circulation* 129 (19): 1924–36. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.113.005610>.

- Meyer, M., and W. H. Dillmann. 1998. "Sarcoplasmic Reticulum Ca(2+)-ATPase Overexpression by Adenovirus Mediated Gene Transfer and in Transgenic Mice." *Cardiovascular Research* 37 (2): 360–66. [https://doi.org/10.1016/s0008-6363\(97\)00270-8](https://doi.org/10.1016/s0008-6363(97)00270-8).
- Mgbemena, Okechukwu, Yixin Zhang, and Gladys Velarde. 2021. "Role of Diabetes Mellitus in Heart Failure With Preserved Ejection Fraction: A Review Article." *Cureus* 13 (11): e19398. <https://doi.org/10.7759/cureus.19398>.
- Migdalís, I. N., K. Kalogeropoulou, D. Zachariadis, K. Koutoulidis, and M. Samartzis. 1994. "Serum Levels of Type III Procollagen Peptide and Peripheral Vascular Disease in Diabetic Patients." *Diabetes Research and Clinical Practice* 23 (3): 179–82. [https://doi.org/10.1016/0168-8227\(94\)90102-3](https://doi.org/10.1016/0168-8227(94)90102-3).
- Mille, Frédéric, Chantal Thibert, Joanna Fombonne, Nicolas Rama, Catherine Guix, Hideki Hayashi, Véronique Corset, John C. Reed, and Patrick Mehlen. 2009. "The Patched Dependence Receptor Triggers Apoptosis through a DRAL-Caspase-9 Complex." *Nature Cell Biology* 11 (6): 739–46. <https://doi.org/10.1038/ncb1880>.
- Miller, M. A., and F. P. Cappuccio. 2006. "Cellular Adhesion Molecules and Their Relationship with Measures of Obesity and Metabolic Syndrome in a Multiethnic Population." *International Journal of Obesity (2005)* 30 (8): 1176–82. <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0803264>.
- Miranda-Silva, Daniela, Rob C. I. Wüst, Glória Conceição, Patrícia Gonçalves-Rodrigues, Nádia Gonçalves, Alexandre Gonçalves, Diederik W. D. Kuster, et al. 2020. "Disturbed Cardiac Mitochondrial and Cytosolic Calcium Handling in a Metabolic Risk-Related Rat Model of Heart Failure with Preserved Ejection Fraction." *Acta Physiologica (Oxford, England)* 228 (3): e13378. <https://doi.org/10.1111/apha.13378>.
- Miyamoto, Michael I., Federica del Monte, Ulrich Schmidt, Thomas S. DiSalvo, Zhao Bin Kang, Takashi Matsui, J. Luis Guerrero, Judith K. Gwathmey, Anthony Rosenzweig, and Roger J. Hajjar. 2000. "Adenoviral Gene Transfer of SERCA2a Improves Left-Ventricular Function in Aortic-Banded Rats in Transition to Heart Failure." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97 (2): 793–98. <https://doi.org/10.1073/pnas.97.2.793>.
- Modesti, P. A., A. Fortini, R. Abbate, and G. F. Gensini. 1985. "Age Related Changes of Platelet Prostacyclin Receptors in Humans." *European Journal of Clinical Investigation* 15 (4): 204–8. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2362.1985.tb00169.x>
- Mogensen, Ulrik Madvig, Mads Ersbøll, Mads Andersen, Charlotte Andersson, Christian Hassager, Christian Torp-Pedersen, Finn Gustafsson, and Lars Køber. 2011. "Clinical Characteristics and Major Comorbidities in Heart Failure Patients More than 85 Years of Age Compared with Younger Age Groups." *European Journal of Heart Failure* 13 (11): 1216–23. <https://doi.org/10.1093/eurjhf/hfr116>.
- Mohammed, Selma F., Saad Hussain, Sultan A. Mirzoyev, William D. Edwards, Joseph J. Maleszewski, and Margaret M. Redfield. 2015. "Coronary Microvascular Rarefaction and Myocardial Fibrosis in Heart Failure with Preserved Ejection Fraction." *Circulation* 131 (6): 550–59. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.114.009625>.
- Mohan Rao, L. Vijaya, Charles T. Esmon, and Usha R. Pendurthi. 2014. "Endothelial Cell Protein C Receptor: A Multiliganded and Multifunctional Receptor." *Blood* 124 (10): 1553–62. <https://doi.org/10.1182/blood-2014-05-578328>.
- Mohebbali, Donya, David Kaplan, McKenzie Carlisle, Mark A. Supiano, and Matthew T. Rondina. 2014. "Alterations in Platelet Functions During Aging: Clinical Correlations with Thrombo-Inflammatory Disease in Older Adults." *Journal of the American Geriatrics Society* 62 (3): 529–35. <https://doi.org/10.1111/jgs.12700>.
- Mojzisch, Angelika, and Maria A. Brehm. 2021. "The Manifold Cellular Functions of von Willebrand Factor." *Cells* 10 (9): 2351. <https://doi.org/10.3390/cells10092351>.
- Mołek, Patrycja, Michał Ząbczyk, Krzysztof P. Malinowski, Joanna Natorska, and Anetta Undas. 2022. "Markers of NET Formation and Stroke Risk in Patients with Atrial Fibrillation: Association with a Prothrombotic State." *Thrombosis Research* 213 (May): 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2022.02.025>.

- Molica, Filippo, Sandrine Morel, Brenda R. Kwak, Françoise Rohner-Jeanrenaud, and Sabine Steffens. 2015. "Adipokines at the Crossroad between Obesity and Cardiovascular Disease." *Thrombosis and Haemostasis* 113 (3): 553–66. <https://doi.org/10.1160/TH14-06-0513>.
- Möllerherm, Helene, Katja Branitzki-Heinemann, Graham Brogden, Ayssar A. Elamin, Wulf Oehlmann, Herbert Fuhrmann, Mahavir Singh, Hassan Y. Naim, and Maren von Köckritz-Blickwede. 2017. "Hypoxia Modulates the Response of Mast Cells to Staphylococcus Aureus Infection." *Frontiers in Immunology* 8 (May): 541. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00541>.
- Mollnau, Hanke, Matthias Oelze, Michael August, Maria Wendt, Andreas Daiber, Eberhard Schulz, Stephan Baldus, et al. 2005. "Mechanisms of Increased Vascular Superoxide Production in an Experimental Model of Idiopathic Dilated Cardiomyopathy." *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 25 (12): 2554–59. <https://doi.org/10.1161/01.ATV.0000190673.41925.9B>.
- Moncada, S., and E. A. Higgs. 1991. "Endogenous Nitric Oxide: Physiology, Pathology and Clinical Relevance." *European Journal of Clinical Investigation* 21 (4): 361–74. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2362.1991.tb01383.x>
- Moncada, S., E. A. Higgs, and J. R. Vane. 1977. "Human Arterial and Venous Tissues Generate Prostacyclin (Prostaglandin x), a Potent Inhibitor of Platelet Aggregation." *Lancet (London, England)* 1 (8001): 18–20. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(77\)91655-5](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(77)91655-5).
- Mooney, Leanne, Colette E. Jackson, Carly Adamson, Alex McConnachie, Paul Welsh, Rachel C. Myles, John J.V. McMurray, Pardeep S. Jhund, Mark C. Petrie, and Ninian N. Lang. 2023. "Adverse Outcomes Associated With Interleukin-6 in Patients Recently Hospitalized for Heart Failure With Preserved Ejection Fraction." *Circulation: Heart Failure* 16 (4): e010051. <https://doi.org/10.1161/CIRCHEARTFAILURE.122.010051>.
- Moore, Kyle H., Hayley A. Murphy, and Eric M. George. 2021. "The Glycocalyx: A Central Regulator of Vascular Function." *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 320 (4): R508–18. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00340.2020>.
- Mora, Pierre, Pierre-Louis Hollier, Sarah Guimbal, Alice Abelanet, Aïssata Diop, Lauriane Cornuault, Thierry Couffignal, et al. 2020a. "Blood–Brain Barrier Genetic Disruption Leads to Protective Barrier Formation at the Glia Limitans." *PLoS Biology* 18 (11): e3000946. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000946>.
- Morfino, Paolo, Alberto Aimò, Vincenzo Castiglione, Giuseppe Vergaro, Michele Emdin, and Aldo Clerico. 2022. "Biomarkers of HFpEF: Natriuretic Peptides, High-Sensitivity Troponins and Beyond." *Journal of Cardiovascular Development and Disease* 9 (8): 256. <https://doi.org/10.3390/jcdd9080256>.
- Mourik, Jan A. van, Thalia Romani de Wit, and Jan Voorberg. 2002. "Biogenesis and Exocytosis of Weibel-Palade Bodies." *Histochemistry and Cell Biology* 117 (2): 113–22. <https://doi.org/10.1007/s00418-001-0368-9>.
- Movahed, Mohammad-Reza, Mehrtash Hashemzadeh, and M. Mazen Jamal. 2005. "The Prevalence of Pulmonary Embolism and Pulmonary Hypertension in Patients with Type II Diabetes Mellitus." *Chest* 128 (5): 3568–71. <https://doi.org/10.1378/chest.128.5.3568>.
- Mukherjee, Shibani, Natalya Frolova, Andrea Sadlonova, Zdenek Novak, Adam Steg, Grier P. Page, Danny R. Welch, et al. 2006. "Hedgehog Signaling and Response to Cyclopamine Differ in Epithelial and Stromal Cells in Benign Breast and Breast Cancer." *Cancer Biology & Therapy* 5 (6): 674–83. <https://doi.org/10.4161/cbt.5.6.2906>.
- Mulligan-Kehoe, Mary Jo, and Michael Simons. 2014. "Vasa Vasorum in Normal and Diseased Arteries." *Circulation* 129 (24): 2557–66. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.113.007189>.
- Muñoz Calvo, Benjamín, Ana Villa Martínez, Susana López Orgil, Natalia López Andrés, Feliciano Román García, Virginia Víctor Palomares, Esther de la Calle de la Villa, Verónica Nadador Patiño, and Ignacio Arribas-Gómez. 2019. "A Global Assessment of Circulating Prolysin Oxidase in Nonischemic Patients With Garden-Variety Heart Failure With Preserved Ejection Fraction." *Revista Espanola De Cardiologia (English Ed.)* 72 (5): 407–15. <https://doi.org/10.1016/j.rec.2018.04.006>.

- Münzel, Thomas, Tommaso Gori, John F. Keane, Christoph Maack, and Andreas Daiber. 2015. "Pathophysiological Role of Oxidative Stress in Systolic and Diastolic Heart Failure and Its Therapeutic Implications." *European Heart Journal* 36 (38): 2555–64. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehv305>.
- Muona, P., S. Jaakkola, R. Z. Zhang, T. C. Pan, L. Pelliniemi, L. Risteli, M. L. Chu, J. Uitto, and J. Peltonen. 1993. "Hyperglycemic Glucose Concentrations Up-Regulate the Expression of Type VI Collagen in Vitro. Relevance to Alterations of Peripheral Nerves in Diabetes Mellitus." *The American Journal of Pathology* 142 (5): 1586–97.
- Murakami, Takashi, Hitoshi Horigome, Kiyoji Tanaka, Yoshio Nakata, Kazunori Ohkawara, Yasutomi Katayama, and Akira Matsui. 2007. "Impact of Weight Reduction on Production of Platelet-Derived Microparticles and Fibrinolytic Parameters in Obesity." *Thrombosis Research* 119 (1): 45–53. <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2005.12.013>.
- Murdoch, Colin E., Sanjay Chaubey, Lingfang Zeng, Bin Yu, Aleksander Ivetic, Simon J. Walker, Davy Vanhoutte, et al. 2014. "Endothelial NADPH Oxidase-2 Promotes Interstitial Cardiac Fibrosis and Diastolic Dysfunction through Proinflammatory Effects and Endothelial-Mesenchymal Transition." *Journal of the American College of Cardiology* 63 (24): 2734–41. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2014.02.572>.
- Murone, Maximilien, Arnon Rosenthal, and Frederic J. de Sauvage. 1999. "Sonic Hedgehog Signaling by the Patched–Smoothed Receptor Complex." *Current Biology* 9 (2): 76–84. [https://doi.org/10.1016/S0960-9822\(99\)80018-9](https://doi.org/10.1016/S0960-9822(99)80018-9).
- Mutch, N. J., H. M. Wilson, and N. A. Booth. 2001. "Plasminogen Activator Inhibitor-1 and Haemostasis in Obesity." *The Proceedings of the Nutrition Society* 60 (3): 341–47. <https://doi.org/10.1079/pns200199>.
- Nagueh, Sherif F., Gopi Shah, Yiming Wu, Guillermo Torre-Amione, Nicholas M.P. King, Sunshine Lahmers, Christian C. Witt, Katy Becker, Siegfried Labeit, and Henk L. Granzier. 2004. "Altered Titin Expression, Myocardial Stiffness, and Left Ventricular Function in Patients With Dilated Cardiomyopathy." *Circulation* 110 (2): 155–62. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000135591.37759.AF>.
- Nahser, P. J., R. E. Brown, H. Oskarsson, M. D. Winniford, and J. D. Rossen. 1995. "Maximal Coronary Flow Reserve and Metabolic Coronary Vasodilation in Patients with Diabetes Mellitus." *Circulation* 91 (3): 635–40. <https://doi.org/10.1161/01.cir.91.3.635>.
- Nair, Girish M, Pablo B Nery, Calum J Redpath, and David H Birnie. 2014. "The Role Of Renin Angiotensin System In Atrial Fibrillation." *Journal of Atrial Fibrillation* 6 (6): 972. <https://doi.org/10.4022/jafib.972>.
- Najafi, Aref, Martijn van de Locht, Maïke Schuldt, Patrick Schönleitner, Menne van Willigenburg, Ilse Bollen, Max Goebel, et al. 2019. "End-Diastolic Force Pre-Activates Cardiomyocytes and Determines Contractile Force: Role of Titin and Calcium." *The Journal of Physiology* 597 (17): 4521–31. <https://doi.org/10.1113/JP277985>.
- Najjar, Emil, Ulrika Ljung Faxén, Camilla Hage, Erwan Donal, Jean-Claude Daubert, Cecilia Linde, and Lars H. Lund. 2019. "ST2 in Heart Failure with Preserved and Reduced Ejection Fraction." *Scandinavian Cardiovascular Journal* 53 (1): 21–27. <https://doi.org/10.1080/14017431.2019.1583363>.
- Nakamura, K, M Kimura, and A Aviv. 1995. "Role of Cyclic Nucleotides in Store-Mediated External Ca²⁺ Entry in Human Platelets." *Biochemical Journal* 310 (Pt 1): 263–69.
- Nangaku, Masaomi, and Toshiro Fujita. 2008. "Activation of the Renin-Angiotensin System and Chronic Hypoxia of the Kidney." *Hypertension Research: Official Journal of the Japanese Society of Hypertension* 31 (2): 175–84. <https://doi.org/10.1291/hypres.31.175>.
- Nassif, Michael E., Sheryl L. Windsor, Barry A. Borlaug, Dalane W. Kitzman, Sanjiv J. Shah, Fengming Tang, Yevgeniy Khariton, et al. 2021. "The SGLT2 Inhibitor Dapagliflozin in Heart Failure with Preserved Ejection Fraction: A Multicenter Randomized Trial." *Nature Medicine* 27 (11): 1954–60. <https://doi.org/10.1038/s41591-021-01536-x>.

- Nattel, Stanley, and Lionel H. Opie. 2006. "Controversies in Atrial Fibrillation." *The Lancet* 367 (9506): 262–72. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)68037-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)68037-9).
- Naylor, Matthew, Leroy L. Cooper, Danielle M. Enserro, Vanessa Xanthakis, Martin G. Larson, Emelia J. Benjamin, Jayashri Aragam, Gary F. Mitchell, and Ramachandran S. Vasan. 2018. "Left Ventricular Diastolic Dysfunction in the Community: Impact of Diagnostic Criteria on the Burden, Correlates, and Prognosis." *Journal of the American Heart Association: Cardiovascular and Cerebrovascular Disease* 7 (11): e008291. <https://doi.org/10.1161/JAHA.117.008291>.
- Naylor, Matthew, Martin G. Larson, Na Wang, Rajalakshmi Santhanakrishnan, Douglas S. Lee, Connie W. Tsao, Susan Cheng, et al. 2017. "The Association of Chronic Kidney Disease and Microalbuminuria with Heart Failure with Preserved vs. Reduced Ejection Fraction." *European Journal of Heart Failure* 19 (5): 615–23. <https://doi.org/10.1002/ejhf.778>.
- Neeland, Ian J., Sachin Gupta, Colby R. Ayers, Aslan T. Turer, J. Eduardo Rame, Sandeep R. Das, Jarett D. Berry, et al. 2013. "Relation of Regional Fat Distribution to Left Ventricular Structure and Function." *Circulation. Cardiovascular Imaging* 6 (5): 800–807. <https://doi.org/10.1161/CIRCIMAGING.113.000532>.
- Neeland, Ian J., Benjamin R. Winders, Colby R. Ayers, Sandeep R. Das, Alice Y. Chang, Jarett D. Berry, Amit Khera, et al. 2013. "Higher Natriuretic Peptide Levels Associate with a Favorable Adipose Tissue Distribution Profile." *Journal of the American College of Cardiology* 62 (8): 10.1016/j.jacc.2013.03.038. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2013.03.038>.
- Negi, Smita I., Euy-Myoung Jeong, Irfan Shukrullah, Emir Veleder, Dean P. Jones, Tai-Hwang M. Fan, Sudhakar Varadarajan, Sergei M. Danilov, Tohru Fukai, and Samuel C. Dudley. 2015. "Renin-Angiotensin Activation and Oxidative Stress in Early Heart Failure with Preserved Ejection Fraction." *BioMed Research International* 2015: 825027. <https://doi.org/10.1155/2015/825027>.
- Negreva, Mariya, Svetoslav Georgiev, and Katerina Vitlianova. 2016. "Early Effects of Paroxysmal Atrial Fibrillation on Plasma Markers of Fibrinolysis." *Medicine* 95 (45): e5184. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000005184>.
- Negreva, Mariya, Negrinova, Krasimira Prodanova, Katerina Vitlianova, and Christiana Madjova. 2020. "Paroxysmal Atrial Fibrillation: Changes in Factor VIII and von Willebrand Factor Impose Early Hypercoagulability." *Archives of Medical Science – Atherosclerotic Diseases* 5 (1): 140–47. <https://doi.org/10.5114/amsad.2020.97101>.
- Nevers, Tania, Ane M. Salvador, Anna Grodecki-Pena, Andrew Knapp, Francisco Velazquez, Mark Aronovitz, Navin K. Kapur, Richard H. Karas, Robert M. Blanton, and Pilar Alcaide. 2015. "Left Ventricular T Cell Recruitment Contributes to the Pathogenesis of Heart Failure." *Circulation. Heart Failure* 8 (4): 776–87. <https://doi.org/10.1161/CIRCHEARTFAILURE.115.002225>.
- Ng, Dominic S., Tina Chu, Bruno Esposito, Patrick Hui, Philip W. Connelly, and Peter L. Gross. 2008. "Paraoxonase-1 Deficiency in Mice Predisposes to Vascular Inflammation, Oxidative Stress, and Thrombogenicity in the Absence of Hyperlipidemia." *Cardiovascular Pathology* 17 (4): 226–32. <https://doi.org/10.1016/j.carpath.2007.10.001>.
- Ni, Ran, Nima Vaezzadeh, Ji Zhou, Jeffrey I. Weitz, Marco Cattaneo, and Peter L. Gross. 2018. "Effect of Different Doses of Acetylsalicylic Acid on the Antithrombotic Activity of Clopidogrel in a Mouse Arterial Thrombosis Model." *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 38 (10): 2338–44. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.118.311404>.
- Nichols, Gregory A., Kristi Reynolds, Teresa M. Kimes, A. Gabriela Rosales, and Wing W. Chan. 2015. "Comparison of Risk of Re-Hospitalization, All-Cause Mortality, and Medical Care Resource Utilization in Patients With Heart Failure and Preserved Versus Reduced Ejection Fraction." *The American Journal of Cardiology* 116 (7): 1088–92. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2015.07.018>.
- Niewiadomski, Pawel, Jennifer H. Kong, Robert Ahrends, Yan Ma, Eric W. Humke, Sohini Khan, Mary N. Teruel, Bennett G. Novitch, and Rajat Rohatgi. 2014. "Gli Protein Activity Is Controlled by Multisite Phosphorylation in Vertebrate Hedgehog Signaling." *Cell Reports* 6 (1): 168–81. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2013.12.003>.

- Niewiadomski, Paweł, Sylwia M. Niedziółka, Łukasz Markiewicz, Tomasz Uśpieński, Brygida Baran, and Katarzyna Chojnowska. 2019. "Gli Proteins: Regulation in Development and Cancer." *Cells* 8 (2): 147. <https://doi.org/10.3390/cells8020147>.
- Nilsen, E, F Johansen, F Jahnsen, K Lundin, T Scholz, P Brandtzaeg, and G Haraldsen. 1998. "Cytokine Profiles of Cultured Microvascular Endothelial Cells from the Human Intestine." *Gut* 42 (5): 635–42.
- Nishimura, Satoshi, Ichiro Manabe, Mika Nagasaki, Kinya Seo, Hiroshi Yamashita, Yumiko Hosoya, Mitsuru Ohsugi, et al. 2008. "In Vivo Imaging in Mice Reveals Local Cell Dynamics and Inflammation in Obese Adipose Tissue." *The Journal of Clinical Investigation* 118 (2): 710–21. <https://doi.org/10.1172/JCI33328>.
- Nishino, Tomoko, Ken Okamoto, Bryan T. Eger, Emil F. Pai, and Takeshi Nishino. 2008. "Mammalian Xanthine Oxidoreductase - Mechanism of Transition from Xanthine Dehydrogenase to Xanthine Oxidase." *The FEBS Journal* 275 (13): 3278–89. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2008.06489.x>.
- Njeim, Rachel, William S. Azar, Angie H. Fares, Sami T. Azar, Hala Kfoury Kassouf, and Assaad A. Eid. 2020. "NETosis Contributes to the Pathogenesis of Diabetes and Its Complications." *Journal of Molecular Endocrinology* 65 (4): R65–76. <https://doi.org/10.1530/JME-20-0128>.
- Nolte, Kathleen, Christoph Herrmann-Lingen, Lars Platschek, Volker Holzendorf, Stefan Pilz, Andreas Tomaschitz, Hans-Dirk Düngen, et al. 2019. "Vitamin D Deficiency in Patients with Diastolic Dysfunction or Heart Failure with Preserved Ejection Fraction." *ESC Heart Failure* 6 (2): 262–70. <https://doi.org/10.1002/ehf2.12413>.
- Nomura, S., S. Kanazawa, and S. Fukuhara. 2002. "Effects of Efonidipine on Platelet and Monocyte Activation Markers in Hypertensive Patients with and without Type 2 Diabetes Mellitus." *Journal of Human Hypertension* 16 (8): 539–47. <https://doi.org/10.1038/sj.jhh.1001447>.
- Nong, Zengxuan, Marc Hoylaerts, Natasha Van Pelt, Désiré Collen, and Stefan Janssens. 1997. "Nitric Oxide Inhalation Inhibits Platelet Aggregation and Platelet-Mediated Pulmonary Thrombosis in Rats." *Circulation Research* 81 (5): 865–69. <https://doi.org/10.1161/01.RES.81.5.865>.
- Noone, Damien, and Christoph Licht. 2014. "Chronic Kidney Disease: A New Look at Pathogenetic Mechanisms and Treatment Options." *Pediatric Nephrology (Berlin, Germany)* 29 (5): 779–92. <https://doi.org/10.1007/s00467-013-2436-5>.
- Nordt, T. K., K. J. Klassen, D. J. Schneider, and B. E. Sobel. 1993. "Augmentation of Synthesis of Plasminogen Activator Inhibitor Type-1 in Arterial Endothelial Cells by Glucose and Its Implications for Local Fibrinolysis." *Arteriosclerosis and Thrombosis: A Journal of Vascular Biology* 13 (12): 1822–28. <https://doi.org/10.1161/01.atv.13.12.1822>.
- Norhammar, Anna, Johan Bodegard, Marc Vanderheyden, Navdeep Tangri, Avraham Karasik, Aldo Pietro Maggioni, Kari Anne Sveen, et al. 2023. "Prevalence, Outcomes and Costs of a Contemporary, Multinational Population with Heart Failure." *Heart* 109 (7): 548–56. <https://doi.org/10.1136/heartjnl-2022-321702>.
- Norton, G. R., G. Candy, and A. J. Woodiwiss. 1996. "Aminoguanidine Prevents the Decreased Myocardial Compliance Produced by Streptozotocin-Induced Diabetes Mellitus in Rats." *Circulation* 93 (10): 1905–12. <https://doi.org/10.1161/01.cir.93.10.1905>.
- Nosavanh, LaGina, Da-Hai Yu, Eric J. Jaehnig, Qiang Tong, Lanlan Shen, and Miao-Hsueh Chen. 2015. "Cell-Autonomous Activation of Hedgehog Signaling Inhibits Brown Adipose Tissue Development." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 112 (16): 5069–74. <https://doi.org/10.1073/pnas.1420978112>.
- Nottebaum, Astrid F., Giuseppe Cagna, Mark Winderlich, Alexander C. Gamp, Ruth Linnepe, Christian Polaschegg, Kristina Filippova, et al. 2008. "VE-PTP Maintains the Endothelial Barrier via Plakoglobin and Becomes Dissociated from VE-Cadherin by Leukocytes and by VEGF." *The Journal of Experimental Medicine* 205 (12): 2929–45. <https://doi.org/10.1084/jem.20080406>.
- Nusca, Annunziata, Dario Tuccinardi, Silvia Pieralice, Sara Giannone, Myriam Carpenito, Lavinia Monte, Mikiko Watanabe, et al. 2021. "Platelet Effects of Anti-Diabetic Therapies: New Perspectives

- in the Management of Patients with Diabetes and Cardiovascular Disease." *Frontiers in Pharmacology* 12. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2021.670155>.
- Nüsslein-Volhard, Christiane, and Eric Wieschaus. 1980. "Mutations Affecting Segment Number and Polarity in *Drosophila*." *Nature* 287 (5785): 795–801. <https://doi.org/10.1038/287795a0>.
- Obokata, Masaru, Yogesh N. V. Reddy, and Barry A. Borlaug. 2020. "Diastolic Dysfunction and Heart Failure with Preserved Ejection Fraction: Understanding Mechanisms with Non-Invasive Methods." *JACC. Cardiovascular Imaging* 13 (1 Pt 2): 245–57. <https://doi.org/10.1016/j.jcmg.2018.12.034>.
- Obokata, Masaru, Yogesh N. V. Reddy, Sorin V. Pislaru, Vojtech Melenovsky, and Barry A. Borlaug. 2017. "Evidence Supporting the Existence of a Distinct Obese Phenotype of Heart Failure With Preserved Ejection Fraction." *Circulation* 136 (1): 6–19. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.116.026807>.
- Ochoa, Begoña, Wing-Kin Syn, Igotz Delgado, Gamze F. Karaca, Youngmi Jung, Jiangbo Wang, Ana M. Zubiaga, et al. 2010. "HEDGEHOG SIGNALING IS CRITICAL FOR NORMAL LIVER REGENERATION AFTER PARTIAL HEPATECTOMY IN MICE." *Hepatology (Baltimore, Md.)* 51 (5): 1712–23. <https://doi.org/10.1002/hep.23525>.
- Okahara, K., B. Sun, and J. Kambayashi. 1998. "Upregulation of Prostacyclin Synthesis-Related Gene Expression by Shear Stress in Vascular Endothelial Cells." *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 18 (12): 1922–26. <https://doi.org/10.1161/01.atv.18.12.1922>.
- Oldfield, M. D., L. A. Bach, J. M. Forbes, D. Nikolic-Paterson, A. McRobert, V. Thallas, R. C. Atkins, T. Osicka, G. Jerums, and M. E. Cooper. 2001. "Advanced Glycation End Products Cause Epithelial-Myofibroblast Transdifferentiation via the Receptor for Advanced Glycation End Products (RAGE)." *The Journal of Clinical Investigation* 108 (12): 1853–63. <https://doi.org/10.1172/JCI11951>.
- Oleksowicz, L., Z. Mrowiec, D. Zuckerman, R. Isaacs, J. Dutcher, and E. Puszkun. 1994. "Platelet Activation Induced by Interleukin-6: Evidence for a Mechanism Involving Arachidonic Acid Metabolism." *Thrombosis and Haemostasis* 72 (2): 302–8.
- Olsen, Catherine L., Pin-Pin Hsu, Jens Glienke, Gabor M. Rubanyi, and Alan R. Brooks. 2004. "Hedgehog-Interacting Protein Is Highly Expressed in Endothelial Cells but down-Regulated during Angiogenesis and in Several Human Tumors." *BMC Cancer* 4 (1): 43. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-4-43>.
- O'Neal, Wesley T., Pratik Sandesara, Muhammad Hammadah, Sanjay Venkatesh, Ayman Samman-Tahhan, Heval M. Kelli, and Elsayed Z. Soliman. 2017. "Gender Differences in the Risk of Adverse Outcomes in Patients With Atrial Fibrillation and Heart Failure With Preserved Ejection Fraction." *The American Journal of Cardiology* 119 (11): 1785–90. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2017.02.045>.
- Opie, Lionel H. 2004. *Heart Physiology: From Cell to Circulation*. Lippincott Williams & Wilkins.
- O'Reilly, Kathryn E., Eleazar Vega-Saenz de Miera, Miguel F. Segura, Erica Friedman, Laura Polisenio, Sung Won Han, Judy Zhong, et al. 2013. "Hedgehog Pathway Blockade Inhibits Melanoma Cell Growth in Vitro and in Vivo." *Pharmaceuticals* 6 (11): 1429–50. <https://doi.org/10.3390/ph6111429>.
- Orfeo, Thomas, Nicole Brufatto, Michael E. Nesheim, Hung Xu, Saulius Butenas, and Kenneth G. Mann. 2004. "The Factor V Activation Paradox." *The Journal of Biological Chemistry* 279 (19): 19580–91. <https://doi.org/10.1074/jbc.M400727200>.
- Oro, Anthony E., and Kay Higgins. 2003. "Hair Cycle Regulation of Hedgehog Signal Reception." *Developmental Biology* 255 (2): 238–48. [https://doi.org/10.1016/s0012-1606\(02\)00042-8](https://doi.org/10.1016/s0012-1606(02)00042-8).
- Owan, Theophilus E., David O. Hodge, Regina M. Herges, Steven J. Jacobsen, Veronique L. Roger, and Margaret M. Redfield. 2006. "Trends in Prevalence and Outcome of Heart Failure with Preserved Ejection Fraction." *New England Journal of Medicine* 355 (3): 251–59. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa052256>.

- Ozcelik, Cemil, Bettina Erdmann, Bernhard Pilz, Nina Wettschureck, Stefan Britsch, Norbert Hübner, Kenneth R. Chien, Carmen Birchmeier, and Alistair N. Garratt. 2002. "Conditional Mutation of the ErbB2 (HER2) Receptor in Cardiomyocytes Leads to Dilated Cardiomyopathy." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99 (13): 8880–85. <https://doi.org/10.1073/pnas.122249299>.
- Pagan, Luana U, Mariana J Gomes, Mariana Gatto, Gustavo A F Mota, Katashi Okoshi, and Marina P Okoshi. 2022. "The Role of Oxidative Stress in the Aging Heart." *Antioxidants* 11 (2): 336. <https://doi.org/10.3390/antiox11020336>.
- Palladino, Mariangela, Ilaria Gatto, Valentina Neri, Stefania Straino, Marcy Silver, Alessandra Tritarelli, Andrea Piccioni, et al. 2011. "Pleiotropic Beneficial Effects of Sonic Hedgehog Gene Therapy in an Experimental Model of Peripheral Limb Ischemia." *Molecular Therapy* 19 (4): 658–66. <https://doi.org/10.1038/mt.2010.292>.
- Palmer, R. M. J., A. G. Ferrige, and S. Moncada. 1987. "Nitric Oxide Release Accounts for the Biological Activity of Endothelium-Derived Relaxing Factor." *Nature* 327 (6122): 524–26. <https://doi.org/10.1038/327524a0>.
- Panas, D., F. H. Khadour, C. Szabó, and R. Schulz. 1998. "Proinflammatory Cytokines Depress Cardiac Efficiency by a Nitric Oxide-Dependent Mechanism." *The American Journal of Physiology* 275 (3): H1016–1023. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1998.275.3.H1016>.
- Pandey, Ambarish, Michael LaMonte, Liviu Klein, Colby Ayers, Bruce M. Psaty, Charles B. Eaton, Norrina B. Allen, et al. 2017. "Relationship Between Physical Activity, Body Mass Index, and Risk of Heart Failure." *Journal of the American College of Cardiology* 69 (9): 1129–42. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2016.11.081>.
- Panesar, Dilveer Kaur, and Michael Burch. 2017. "Assessment of Diastolic Function in Congenital Heart Disease." *Frontiers in Cardiovascular Medicine* 4 (February): 5. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2017.00005>.
- Papayannopoulos, Venizelos. 2018. "Neutrophil Extracellular Traps in Immunity and Disease." *Nature Reviews Immunology* 18 (2): 134–47. <https://doi.org/10.1038/nri.2017.105>.
- Parikh, Victoria N., Jing Liu, Ching Shang, Christopher Woods, Alex C. Chang, Mingming Zhao, David N. Charo, et al. 2018. "Apelin and APJ Orchestrate Complex Tissue-Specific Control of Cardiomyocyte Hypertrophy and Contractility in the Hypertrophy-Heart Failure Transition." *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology* 315 (2): H348–56. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00693.2017>.
- Parmacek, Michael S., and R. John Solaro. 2004. "Biology of the Troponin Complex in Cardiac Myocytes." *Progress in Cardiovascular Diseases* 47 (3): 159–76. <https://doi.org/10.1016/j.pcad.2004.07.003>.
- Parmar, Kush M., H. Benjamin Larman, Guohao Dai, Yuzhi Zhang, Eric T. Wang, Sripriya N. Moorthy, Johannes R. Kratz, et al. 2006. "Integration of Flow-Dependent Endothelial Phenotypes by Kruppel-like Factor 2." *Journal of Clinical Investigation* 116 (1): 49–58. <https://doi.org/10.1172/JCI24787>.
- Pascual-Figal, Domingo A., and James L. Januzzi. 2015. "The Biology of ST2: The International ST2 Consensus Panel." *American Journal of Cardiology* 115 (7): 3B–7B. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2015.01.034>.
- Paton, Chad M. 2013. "Obesity Induced Fibrinogen Formation and Its Effect on Adipocyte Inflammation and Glucose Uptake." *The FASEB Journal* 27 (S1): 565.1–565.1. https://doi.org/10.1096/fasebj.27.1_supplement.565.1.
- Paulis, Ludovit, Jeremy Fauconnier, Olivier Cazorla, Jérôme Thireau, Raffaella Soleti, Bastien Vidal, Aude Ouillé, et al. 2015. "Activation of Sonic Hedgehog Signaling in Ventricular Cardiomyocytes Exerts Cardioprotection against Ischemia Reperfusion Injuries." *Scientific Reports* 5 (January): 7983. <https://doi.org/10.1038/srep07983>.

- Paulus, W. J., and C. Tschope. 2013. "A Novel Paradigm for Heart Failure with Preserved Ejection Fraction: Comorbidities Drive Myocardial Dysfunction and Remodeling through Coronary Microvascular Endothelial Inflammation." *J Am Coll Cardiol* 62 (4): 263–71. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2013.02.092>
- Paulus, Walter J. 2020. "Adhesion Molecules in Early Adulthood Predict Heart Failure With Preserved Ejection Fraction at Older Age." *Journal of the American College of Cardiology* 75 (17): 2166–68. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2020.03.016>.
- Paulus, Walter J., and Elisa Dal Canto. 2018. "Distinct Myocardial Targets for Diabetes Therapy in Heart Failure With Preserved or Reduced Ejection Fraction." *JACC: Heart Failure* 6 (1): 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.jchf.2017.07.012>.
- Paulus, Walter J., and öpe Carsten Tsch. 2013. "A Novel Paradigm for Heart Failure With Preserved Ejection Fraction." *Journal of the American College of Cardiology* 62 (4): 263–71. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2013.02.092>.
- Paulus, Walter J., and Carsten Tschöpe. 2013. "A Novel Paradigm for Heart Failure with Preserved Ejection Fraction: Comorbidities Drive Myocardial Dysfunction and Remodeling through Coronary Microvascular Endothelial Inflammation." *Journal of the American College of Cardiology* 62 (4): 263–71. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2013.02.092>.
- Pellegrini, Dario, Rika Kawakami, Giulio Guagliumi, Atsushi Sakamoto, Kenji Kawai, Andrea Gianatti, Ahmed Nasr, et al. 2021. "Microthrombi as a Major Cause of Cardiac Injury in COVID-19: A Pathologic Study." *Circulation* 143 (10): 1031–42. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.120.051828>.
- Pendu, Ronan, Virginie Terraube, Olivier D. Christophe, Carl G. Gahmberg, Philip G. de Groot, Peter J. Lenting, and Cecile V. Denis. 2006. "P-Selectin Glycoprotein Ligand 1 and Beta2-Integrins Cooperate in the Adhesion of Leukocytes to von Willebrand Factor." *Blood* 108 (12): 3746–52. <https://doi.org/10.1182/blood-2006-03-010322>.
- Peng, Yu-Ching, Charles M. Levine, Sarwar Zahid, E. Lynette Wilson, and Alexandra L. Joyner. 2013. "Sonic Hedgehog Signals to Multiple Prostate Stromal Stem Cells That Replenish Distinct Stromal Subtypes during Regeneration." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110 (51): 20611–16. <https://doi.org/10.1073/pnas.1315729110>.
- Pepinsky, R. B., C. Zeng, D. Wen, P. Rayhorn, D. P. Baker, K. P. Williams, S. A. Bixler, et al. 1998. "Identification of a Palmitic Acid-Modified Form of Human Sonic Hedgehog." *The Journal of Biological Chemistry* 273 (22): 14037–45. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.22.14037>.
- Periayah, Mercy Halleluyah, Ahmad Sukari Halim, and Arman Zaharil Mat Saad. 2017. "Mechanism Action of Platelets and Crucial Blood Coagulation Pathways in Hemostasis." *International Journal of Hematology-Oncology and Stem Cell Research* 11 (4): 319–27.
- Perry, Jr, H. Mitchell, Barry R. Davis, Thomas R. Price, William B. Applegate, William S. Fields, Jack M. Guralnik, Lewis Kuller, et al. 2000. "Effect of Treating Isolated Systolic Hypertension on the Risk of Developing Various Types and Subtypes of StrokeThe Systolic Hypertension in the Elderly Program (SHEP)." *JAMA* 284 (4): 465–71. <https://doi.org/10.1001/jama.284.4.465>.
- Persson, Hans, Eva Lonn, Magnus Edner, Lawrence Baruch, Chim C. Lang, John J. Morton, Jan Östergren, Robert S. McKelvie, and null null. 2007. "Diastolic Dysfunction in Heart Failure With Preserved Systolic Function: Need for Objective Evidence." *Journal of the American College of Cardiology* 49 (6): 687–94. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2006.08.062>.
- Peters, Anthony E, Jasper Tromp, Sanjiv J Shah, Carolyn S P Lam, Gregory D Lewis, Barry A Borlaug, Kavita Sharma, et al. 2022. "Phenomapping in Heart Failure with Preserved Ejection Fraction: Insights, Limitations, and Future Directions." *Cardiovascular Research*, November, cvac179. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvac179>.
- Pfeffer, Marc A., Amil M. Shah, and Barry A. Borlaug. 2019. "Heart Failure With Preserved Ejection Fraction In Perspective." *Circulation Research* 124 (11): 1598–1617. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.119.313572>.
- Pfenniger, Anna, Marc Chanson, and Brenda R. Kwak. 2013. "Connexins in Atherosclerosis." *Biochimica Et Biophysica Acta* 1828 (1): 157–66. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2012.05.011>.

- Phan, Thanh T., Khalid Abozguia, Ganesh Nallur Shivu, Gnanadevan Mahadevan, Ibrar Ahmed, Lynne Williams, Girish Dwivedi, et al. 2009. "Heart Failure with Preserved Ejection Fraction Is Characterized by Dynamic Impairment of Active Relaxation and Contraction of the Left Ventricle on Exercise and Associated with Myocardial Energy Deficiency." *Journal of the American College of Cardiology* 54 (5): 402–9. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2009.05.012>.
- Phan, Thanh T., Khalid Abozguia, Ganesh Nallur Shivu, Ibrar Ahmed, Francisco Leyva, Kiran Patel, and Michael Frenneaux. 2009. "Increased Atrial Contribution to Left Ventricular Filling Compensates for Impaired Early Filling during Exercise in Heart Failure with Preserved Ejection Fraction." *Journal of Cardiac Failure* 15 (10): 890–97. <https://doi.org/10.1016/j.cardfail.2009.06.440>.
- Pieske, Burkert, Carsten Tschöpe, Rudolf A de Boer, Alan G Fraser, Stefan D Anker, Erwan Donal, Frank Edelmann, et al. 2019. "How to Diagnose Heart Failure with Preserved Ejection Fraction: The HFA-PEFF Diagnostic Algorithm: A Consensus Recommendation from the Heart Failure Association (HFA) of the European Society of Cardiology (ESC)." *European Heart Journal* 40 (40): 3297–3317. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz641>.
- Pieters, Marlien, Namukolo Covic, Francois H. van der Westhuizen, Chandrasekaran Nagaswami, Yelena Baras, Du Toit Loots, Johann C. Jerling, et al. 2008. "Glycaemic Control Improves Fibrin Network Characteristics in Type 2 Diabetes – A Purified Fibrinogen Model." *Thrombosis and Haemostasis* 99 (4): 691–700. <https://doi.org/10.1160/TH07-11-0699>.
- Pietrobono, Silvia, Sinforosa Gagliardi, and Barbara Stecca. 2019. "Non-Canonical Hedgehog Signaling Pathway in Cancer: Activation of GLI Transcription Factors Beyond Smoothed." *Frontiers in Genetics* 10: 556. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00556>.
- Pilz, Renate B., and Darren E. Casteel. 2003. "Regulation of Gene Expression by Cyclic GMP." *Circulation Research* 93 (11): 1034–46. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000103311.52853.48>.
- Pinto, Alexander R., Alexei Ilinykh, Malina J. Ivey, Jill T. Kuwabara, Michelle L. D'Antoni, Ryan Debuque, Anjana Chandran, et al. 2016. "Revisiting Cardiac Cellular Composition." *Circulation Research* 118 (3): 400–409. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.115.307778>.
- Piquereau, Jerome, Fanny Caffin, Marta Novotova, Christophe Lemaire, Vladimir Veksler, Anne Garnier, Renee Ventura-Clapier, and Frederic Joubert. 2013. "Mitochondrial Dynamics in the Adult Cardiomyocytes: Which Roles for a Highly Specialized Cell?" *Frontiers in Physiology* 4 (May): 102. <https://doi.org/10.3389/fphys.2013.00102>.
- Pitt, Bertram, Marc A. Pfeffer, Susan F. Assmann, Robin Boineau, Inder S. Anand, Brian Claggett, Nadine Clausell, et al. 2014. "Spironolactone for Heart Failure with Preserved Ejection Fraction." *New England Journal of Medicine* 370 (15): 1383–92. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1313731>.
- Pober, Jordan S., and William C. Sessa. 2007. "Evolving Functions of Endothelial Cells in Inflammation." *Nature Reviews Immunology* 7 (10): 803–15. <https://doi.org/10.1038/nri2171>.
- Pocock, Stuart J., Cono A. Ariti, John J. V. McMurray, Aldo Maggioni, Lars Køber, Iain B. Squire, Karl Swedberg, et al. 2013. "Predicting Survival in Heart Failure: A Risk Score Based on 39 372 Patients from 30 Studies." *European Heart Journal* 34 (19): 1404–13. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehs337>.
- Podobed, Peter S., Faisal J. Alibhai, Chi-Wing Chow, and Tami A. Martino. 2014. "Circadian Regulation of Myocardial Sarcomeric Titin-Cap (Tcap, Telethonin): Identification of Cardiac Clock-Controlled Genes Using Open Access Bioinformatics Data." *PloS One* 9 (8): e104907. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0104907>.
- Pogátsa, G., E. Dubecz, and G. y Gábor. 1976. "The Role of Myocardial Edema in the Left Ventricular Diastolic Stiffness." *Basic Research in Cardiology* 71 (3): 263–69. <https://doi.org/10.1007/BF01906451>.
- Pogwizd, S. M., K. Schlotthauer, L. Li, W. Yuan, and D. M. Bers. 2001. "Arrhythmogenesis and Contractile Dysfunction in Heart Failure: Roles of Sodium-Calcium Exchange, Inward Rectifier Potassium Current, and Residual Beta-Adrenergic Responsiveness." *Circulation Research* 88 (11): 1159–67. <https://doi.org/10.1161/hh1101.091193>.

- Pohl, U., C. Nolte, A. Bunse, M. Eigenthaler, and U. Walter. 1994. "Endothelium-Dependent Phosphorylation of Vasodilator-Stimulated Protein in Platelets during Coronary Passage." *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 266 (2): H606–12. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1994.266.2.H606>.
- Pola, Roberto, Leona E. Ling, Tamar R. Aprahamian, Elena Barban, Marta Bosch-Marce, Cynthia Curry, Michael Corbley, Marianne Kearney, Jeffrey M. Isner, and Douglas W. Losordo. 2003. "Postnatal Recapitulation of Embryonic Hedgehog Pathway in Response to Skeletal Muscle Ischemia." *Circulation* 108 (4): 479–85. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000080338.60981.FA>.
- Pola, Roberto, Leona Ling, Marcy Silver, Michael Corbley, Marianne Kearney, R Pepinsky, Renée Shapiro, et al. 2001. "The Morphogen Sonic Hedgehog Is an Indirect Angiogenic Agent Upregulating Two Families of Angiogenic Growth Factors." *Nature Medicine* 7 (July): 706–11. <https://doi.org/10.1038/89083>.
- Poli, K. A., G. H. Tofler, M. G. Larson, J. C. Evans, P. A. Sutherland, I. Lipinska, M. A. Mittleman, et al. 2000. "Association of Blood Pressure with Fibrinolytic Potential in the Framingham Offspring Population." *Circulation* 101 (3): 264–69. <https://doi.org/10.1161/01.cir.101.3.264>.
- Polizio, Ariel H., Pilar Chinchilla, Xiaole Chen, Sangbum Kim, David R. Manning, and Natalia A. Riobo. 2011. "Heterotrimeric Gi Proteins Link Hedgehog Signaling to Activation of Rho Small GTPases to Promote Fibroblast Migration." *The Journal of Biological Chemistry* 286 (22): 19589–96. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.197111>.
- Ponikowski, Piotr, Adriaan A. Voors, Stefan D. Anker, Héctor Bueno, John G. F. Cleland, Andrew J. S. Coats, Volkmar Falk, et al. 2016. "2016 ESC Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure: The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure of the European Society of Cardiology (ESC) Developed with the Special Contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC." *European Heart Journal* 37 (27): 2129–2200. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehw128>.
- Ponomaryov, Tatyana, Holly Payne, Larissa Fabritz, Denisa D. Wagner, and Alexander Brill. 2017. "Mast Cells Granular Contents Are Crucial for Deep Vein Thrombosis in Mice." *Circulation Research* 121 (8): 941–50. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.117.311185>.
- Popović, Zoran B., Anand Prasad, Mario J. Garcia, Armin Arbab-Zadeh, Allen Borowski, Erika Dijk, Neil L. Greenberg, Benjamin D. Levine, and James D. Thomas. 2006. "Relationship among Diastolic Intraventricular Pressure Gradients, Relaxation, and Preload: Impact of Age and Fitness." *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology* 290 (4): H1454–1459. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00902.2005>.
- Parenta, Gerold, Simon Cherry, Johannes Czernin, Richard Brunken, William Kuhle, Tetsuo Hashimoto, and Heinrich R. Schelbert. 1999. "Noninvasive Determination of Myocardial Blood Flow, Oxygen Consumption and Efficiency in Normal Humans by Carbon-11 Acetate Positron Emission Tomography Imaging." *European Journal of Nuclear Medicine* 26 (11): 1465–1574. <https://doi.org/10.1007/s002590050480>.
- Porter, Jeffery A., Keith E. Young, and Philip A. Beachy. 1996. "Cholesterol Modification of Hedgehog Signaling Proteins in Animal Development." *Science* 274 (5285): 255–59. <https://doi.org/10.1126/science.274.5285.255>.
- Potente, Michael, and Stefanie Dimmeler. 2008. "Emerging Roles of SIRT1 in Vascular Endothelial Homeostasis." *Cell Cycle* 7 (14): 2117–22. <https://doi.org/10.4161/cc.7.14.6267>.
- Prajapati, Aradhana, Sidharth Mehan, and Zuber Khan. 2023. "The Role of Smo-Shh/Gli Signaling Activation in the Prevention of Neurological and Ageing Disorders." *Biogerontology* 24 (4): 493–531. <https://doi.org/10.1007/s10522-023-10034-1>.
- Pretorius, Mias, David Rosenbaum, Douglas E. Vaughan, and Nancy J. Brown. 2003. "Angiotensin-Converting Enzyme Inhibition Increases Human Vascular Tissue-Type Plasminogen Activator Release Through Endogenous Bradykinin." *Circulation* 107 (4): 579–85. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000046268.59922.A4>.

- Previtali, Emanuele, Paolo Bucciarelli, Serena M. Passamonti, and Ida Martinelli. 2011. "Risk Factors for Venous and Arterial Thrombosis." *Blood Transfusion = Trasfusione Del Sangue* 9 (2): 120–38. <https://doi.org/10.2450/2010.0066-10>.
- Price, Mary Ann. 2006. "CKI, There's More than One: Casein Kinase I Family Members in Wnt and Hedgehog Signaling." *Genes & Development* 20 (4): 399–410. <https://doi.org/10.1101/gad.1394306>.
- Primrose, J. N., J. A. Davies, C. R. Prentice, R. Hughes, and D. Johnston. 1992. "Reduction in Factor VII, Fibrinogen and Plasminogen Activator Inhibitor-1 Activity after Surgical Treatment of Morbid Obesity." *Thrombosis and Haemostasis* 68 (4): 396–99. <https://doi.org/10.1055%2Fs-0038-1646284>
- Qin, Fuzhong, Deborah A. Siwik, Steve Lancel, Jingmei Zhang, Gabriela M. Kuster, Ivan Luptak, Lei Wang, et al. 2013. "Hydrogen Peroxide-Mediated SERCA Cysteine 674 Oxidation Contributes to Impaired Cardiac Myocyte Relaxation in Senescent Mouse Heart." *Journal of the American Heart Association* 2 (4): e000184. <https://doi.org/10.1161/JAHA.113.000184>.
- Radomski, M. W., R. M. Palmer, and S. Moncada. 1990. "An L-Arginine/Nitric Oxide Pathway Present in Human Platelets Regulates Aggregation." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 87 (13): 5193–97. <https://doi.org/10.1073/pnas.87.13.5193>.
- Ramón, Fidel, and Amelia Rivera. 1986. "Gap Junction Channel Modulation—A Physiological Viewpoint." *Progress in Biophysics and Molecular Biology* 48 (3): 127–53. [https://doi.org/10.1016/0079-6107\(86\)90010-6](https://doi.org/10.1016/0079-6107(86)90010-6).
- Ramsbottom, Simon A., and Mary E. Pownall. 2016. "Regulation of Hedgehog Signalling Inside and Outside the Cell." *Journal of Developmental Biology* 4 (3): 23. <https://doi.org/10.3390/jdb4030023>.
- Raphael, Roseanne, Diana Purushotham, Courtney Gastonguay, Marla A. Chesnik, Wai-Meng Kwok, Hsiang-En Wu, Sanjiv J. Shah, Shama P. Mirza, and Jennifer L. Strande. 2016. "Combining Patient Proteomics and in Vitro Cardiomyocyte Phenotype Testing to Identify Potential Mediators of Heart Failure with Preserved Ejection Fraction." *Journal of Translational Medicine* 14 (January): 18. <https://doi.org/10.1186/s12967-016-0774-3>.
- Rastaldo, R., P. Pagliaro, S. Cappello, C. Penna, D. Mancardi, N. Westerhof, and G. Losano. 2007. "Nitric Oxide and Cardiac Function." *Life Sciences* 81 (10): 779–93. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2007.07.019>.
- Ravassa, Susana, Tobias Trippel, Doris Bach, Diana Bachran, Arantxa González, Begoña López, Rolf Wachter, et al. 2018. "Biomarker-Based Phenotyping of Myocardial Fibrosis Identifies Patients with Heart Failure with Preserved Ejection Fraction Resistant to the Beneficial Effects of Spironolactone: Results from the Aldo-DHF Trial." *European Journal of Heart Failure* 20 (9): 1290–99. <https://doi.org/10.1002/ejhf.1194>.
- Reddy, Yogesh N. V., and Barry A. Borlaug. 2016. "Heart Failure With Preserved Ejection Fraction." *Current Problems in Cardiology*, Heart Failure with Preserved Ejection Fraction, 41 (4): 145–88. <https://doi.org/10.1016/j.cpcardiol.2015.12.002>.
- Redfield, Margaret M., Kevin J. Anstrom, James A. Levine, Gabe A. Koepp, Barry A. Borlaug, Horng H. Chen, Martin M. LeWinter, et al. 2015. "Isosorbide Mononitrate in Heart Failure with Preserved Ejection Fraction." *The New England Journal of Medicine* 373 (24): 2314–24. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1510774>.
- Redfield, Margaret M., and Barry A. Borlaug. 2023. "Heart Failure With Preserved Ejection Fraction: A Review." *JAMA* 329 (10): 827–38. <https://doi.org/10.1001/jama.2023.2020>.
- Redfield, Margaret M., Horng H. Chen, Barry A. Borlaug, Marc J. Semigran, Kerry L. Lee, Gregory Lewis, Martin M. LeWinter, et al. 2013. "Effect of Phosphodiesterase-5 Inhibition on Exercise Capacity and Clinical Status in Heart Failure with Preserved Ejection Fraction: A Randomized Clinical Trial." *JAMA* 309 (12): 1268–77. <https://doi.org/10.1001/jama.2013.2024>.

- Reed, M. J., K. Meszaros, L. J. Entes, M. D. Claypool, J. G. Pinkett, T. M. Gadbois, and G. M. Reaven. 2000. "A New Rat Model of Type 2 Diabetes: The Fat-Fed, Streptozotocin-Treated Rat." *Metabolism: Clinical and Experimental* 49 (11): 1390–94. <https://doi.org/10.1053/meta.2000.17721>.
- Reil, Jan-Christian, Mathias Hohl, Gert-Hinrich Reil, Henk L. Granzier, Mario T. Kratz, Andrey Kazakov, Peter Fries, 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." *European Heart Journal* 34 (36): 2839–49. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehs218>.
- Reiner, Alexander P., David S. Siscovick, and Frits R. Rosendaal. 2001. "Hemostatic Risk Factors and Arterial Thrombotic Disease." *Thrombosis and Haemostasis* 85 (4): 584–95. <https://doi.org/10.1055/s-0037-1615638>.
- Reininger, Armin J., Harry F. G. Heijnen, Hannah Schumann, Hanno M. Specht, Wolfgang Schramm, and Zaverio M. Ruggeri. 2006. "Mechanism of Platelet Adhesion to von Willebrand Factor and Microparticle Formation under High Shear Stress." *Blood* 107 (9): 3537–45. <https://doi.org/10.1182/blood-2005-02-0618>.
- Remmelzwaal, Sharon, Adriana J. van Ballegooijen, Linda J. Schoonmade, Elisa Dal Canto, M. Louis Handoko, Michiel T. H. M. Henkens, Vanessa van Empel, Stephane R. B. Heymans, and Joline W. J. Beulens. 2020. "Natriuretic Peptides for the Detection of Diastolic Dysfunction and Heart Failure with Preserved Ejection Fraction—a Systematic Review and Meta-Analysis." *BMC Medicine* 18 (October): 290. <https://doi.org/10.1186/s12916-020-01764-x>.
- Renault, M. A., C. Chapouly, Q. Yao, F. Larrieu-Lahargue, S. Vandierdonck, A. Reynaud, M. Petit, et al. 2013. "Desert Hedgehog Promotes Ischemia-Induced Angiogenesis by Ensuring Peripheral Nerve Survival." *Circ Res* 112 (5): 762–70.
- Renault, Marie-Ange, Fanny Robbesyn, Candice Chapouly, Qinyu Yao, Soizic Vandierdonck, Annabel Reynaud, Isabelle Belloc, et al. 2013. "Hedgehog-Dependent Regulation of Angiogenesis and Myogenesis Is Impaired in Aged Mice." *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 33 (12): 2858–66. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.113.302494>.
- Renault, Marie-Ange, Jérôme Roncalli, Jörn Tongers, Sol Misener, Tina Thorne, Kentaro Jujo, Aiko Ito, et al. 2009. "The Hedgehog Transcription Factor Gli3 Modulates Angiogenesis." *Circulation Research* 105 (8): 818–26. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.109.206706>.
- Renault, Marie-Ange, Jérôme Roncalli, Jörn Tongers, Tina Thorne, Ekaterina Klyachko, Sol Misener, Olga V. Volpert, et al. 2010. "Sonic Hedgehog Induces Angiogenesis via Rho Kinase-Dependent Signaling in Endothelial Cells." *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 49 (3): 490–98. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2010.05.003>.
- Rg, Hart, Pearce La, and Aguilar Mi. 2007. "Meta-Analysis: Antithrombotic Therapy to Prevent Stroke in Patients Who Have Nonvalvular Atrial Fibrillation." *Annals of Internal Medicine* 146 (12). <https://doi.org/10.7326/0003-4819-146-12-200706190-00007>.
- Rider, Oliver J., Jane M. Francis, Mohammed K. Ali, Steffen E. Petersen, Monique Robinson, Matthew D. Robson, James P. Byrne, Kieran Clarke, and Stefan Neubauer. 2009. "Beneficial Cardiovascular Effects of Bariatric Surgical and Dietary Weight Loss in Obesity." *Journal of the American College of Cardiology* 54 (8): 718–26. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2009.02.086>.
- Riet, Luuk te, Joep H.M. van Esch, Anton J.M. Roks, Anton H. van den Meiracker, and A.H. Jan Danser. 2015. "Hypertension." *Circulation Research* 116 (6): 960–75. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.303587>.
- Rijken, D. C., and H. R. Lijnen. 2009. "New Insights into the Molecular Mechanisms of the Fibrinolytic System." *Journal of Thrombosis and Haemostasis: JTH* 7 (1): 4–13. <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2008.03220.x>.
- Riobo, Natalia A., and David R. Manning. 2007. "Pathways of Signal Transduction Employed by Vertebrate Hedgehogs." *The Biochemical Journal* 403 (3): 369–79. <https://doi.org/10.1042/BJ20061723>.

- Riobo, Natalia A., Berangere Saucy, Cherisse DiLizio, and David R. Manning. 2006. "Activation of Heterotrimeric G Proteins by Smoothed." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103 (33): 12607–12. <https://doi.org/10.1073/pnas.0600880103>.
- Rizzo, Maria Rosaria, Emilia Ragno, Michelangela Barbieri, Domenico De Lucia, Daniela Manzella, Maria Rosaria Tagliamonte, Donatella Colaizzo, Maurizio Margaglione, and Giuseppe Paolisso. 2002. "Elevated Plasma Activator Inhibitor 1 Is Not Related to Insulin Resistance and to Gene Polymorphism in Healthy Centenarians." *Atherosclerosis* 160 (2): 385–90. [https://doi.org/10.1016/s0021-9150\(01\)00575-5](https://doi.org/10.1016/s0021-9150(01)00575-5).
- Robbins, David J., Dennis Liang Fei, and Natalia A. Riobo. 2012. "The Hedgehog Signal Transduction Network." *Science Signaling* 5 (246): re6. <https://doi.org/10.1126/scisignal.2002906>.
- Robinson, Mark D., Davis J. McCarthy, and Gordon K. Smyth. 2010. "edgeR: A Bioconductor Package for Differential Expression Analysis of Digital Gene Expression Data." *Bioinformatics (Oxford, England)* 26 (1): 139–40. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp616>.
- Robinson, P W, D R Jury, and A G Langdon. 1991. "The Relative Clotting Activity of Glycated and Non-Glycated Forms of Fibrinogen." *Annals of Clinical Biochemistry* 28 (6): 618–19. <https://doi.org/10.1177/000456329102800613>.
- Rocca, B., F. Santilli, D. Pitocco, L. Mucci, G. Petrucci, E. Vitacolonna, S. Lattanzio, et al. 2012. "The Recovery of Platelet Cyclooxygenase Activity Explains Interindividual Variability in Responsiveness to Low-Dose Aspirin in Patients with and without Diabetes." *Journal of Thrombosis and Haemostasis: JTH* 10 (7): 1220–30. <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2012.04723.x>.
- Rodgers, Joseph T., Carlos Lerin, Wilhelm Haas, Steven P. Gygi, Bruce M. Spiegelman, and Pere Puigserver. 2005. "Nutrient Control of Glucose Homeostasis through a Complex of PGC-1 α and SIRT1." *Nature* 434 (7029): 113–18. <https://doi.org/10.1038/nature03354>.
- Rodrigues, Brian, Margaret C. Cam, and John H. McNeill. 1998. "Metabolic Disturbances in Diabetic Cardiomyopathy." *Molecular and Cellular Biochemistry* 180 (1): 53–57. <https://doi.org/10.1023/A:1006882805197>.
- Rodríguez-Pérez, José Manuel, Rosalinda Posadas-Sánchez, Ruben Blachman-Braun, Gilberto Vargas-Alarcón, Carlos Posadas-Romero, Adrián Asael Rodríguez-Cortés, Fabiola López-Bautista, et al. 2018a. "HHIPL-1 (Rs2895811) Gene Polymorphism Is Associated with Cardiovascular Risk Factors and Cardiometabolic Parameters in Mexicans Patients with Myocardial Infarction." *Gene* 663 (July): 34–40. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2018.04.030>.
- Røe, Åsmund T., Jan Magnus Aronsen, Kristine Skårdal, Nazha Hamdani, Wolfgang A. Linke, Håvard E. Danielsen, Ole M. Sejersted, Ivar Sjaastad, and William E. Louch. 2017. "Increased Passive Stiffness Promotes Diastolic Dysfunction despite Improved Ca²⁺ Handling during Left Ventricular Concentric Hypertrophy." *Cardiovascular Research* 113 (10): 1161–72. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvx087>.
- Roncalli, J., M. A. Renault, J. Tongers, S. Misener, T. Thorne, C. Kamide, K. Jujo, et al. 2011. "Sonic Hedgehog-Induced Functional Recovery after Myocardial Infarction Is Enhanced by AMD3100-Mediated Progenitor-Cell Mobilization." *J Am Coll Cardiol* 57 (24): 2444–52.
- Rosano, Giuseppe M. C., Cristiana Vitale, and Gabriele Fragasso. 2006. "Metabolic Therapy for Patients with Diabetes Mellitus and Coronary Artery Disease." *The American Journal of Cardiology* 98 (5A): 14J–18J. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2006.07.004>.
- Rosas, Paola C., Yang Liu, Mohamed I. Abdalla, Candice M. Thomas, David T. Kidwell, Giuseppina F. Dusio, Dhriti Mukhopadhyay, et al. 2015. "Phosphorylation of Cardiac Myosin Binding Protein-C Is a Critical Mediator of Diastolic Function." *Circulation. Heart Failure* 8 (3): 582–94. <https://doi.org/10.1161/CIRCHEARTFAILURE.114.001550>.
- Rossi, G. 1967. "[Nomenclature and diagnostic criteria in cardiology set by the New York Heart Association. Considerations on the 6th edition]." *Cuore E Circolazione* 51 (6): 287–93.

- Rouhana, Sarah, Charlotte Farah, Jerome Roy, Amanda Finan, Glaucy Rodrigues de Araujo, Patrice Bideaux, Valérie Scheuermann, et al. 2019. "Early Calcium Handling Imbalance in Pressure Overload-Induced Heart Failure with Nearly Normal Left Ventricular Ejection Fraction." *Biochimica Et Biophysica Acta. Molecular Basis of Disease* 1865 (1): 230–42. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2018.08.005>.
- Rozenbaum, Zach, Yan Topilsky, Shafik Houry, David Pereg, and Michal Laufer-Perl. 2019. "Association of Body Mass Index and Diastolic Function in Metabolically Healthy Obese with Preserved Ejection Fraction." *International Journal of Cardiology* 277 (February): 147–52. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2018.08.008>.
- Rubboli, A., P. A. Sobotka, and D. E. Euler. 1994. "Effect of Acute Edema on Left Ventricular Function and Coronary Vascular Resistance in the Isolated Rat Heart." *The American Journal of Physiology* 267 (3 Pt 2): H1054-1061. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1994.267.3.H1054>.
- Ruggeri, Zaverio M. 1999. "Structure and Function of von Willebrand Factor." *Thrombosis and Haemostasis* 82 (8): 576–84. <https://doi.org/10.1055/s-0037-1615883>.
- Ruggeri, Zaverio M., and G. Loredana Mendolicchio. 2007. "Adhesion Mechanisms in Platelet Function." *Circulation Research* 100 (12): 1673–85. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000267878.97021.ab>.
- Russo, Isabella, Monica Traversa, Katia Bonomo, Alessandro De Salve, Luigi Mattiello, Paola Del Mese, Gabriella Doronzo, Franco Cavalot, Mariella Trovati, and Giovanni Anfossi. 2010. "In Central Obesity, Weight Loss Restores Platelet Sensitivity to Nitric Oxide and Prostacyclin." *Obesity (Silver Spring, Md.)* 18 (4): 788–97. <https://doi.org/10.1038/oby.2009.302>.
- S, Heiden, Vignon-Zellweger N, Masuda S, Yagi K, Nakayama K, Yanagisawa M, and Emoto N. 2014. "Vascular Endothelium Derived Endothelin-1 Is Required for Normal Heart Function after Chronic Pressure Overload in Mice." *PloS One* 9 (2). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0088730>.
- Sabbah, Michael S., Ahmed U. Fayyaz, Simon de Denus, G. Michael Felker, Barry A. Borlaug, Surendra Dasari, Rickey E. Carter, and Margaret M. Redfield. 2020. "Obese-Inflammatory Phenotypes in Heart Failure With Preserved Ejection Fraction." *Circulation. Heart Failure* 13 (8): e006414. <https://doi.org/10.1161/CIRCHEARTFAILURE.119.006414>.
- Sadeghi, H. M., J. F. Schnelle, J. K. Thoma, P. Nishanian, and J. L. Fahey. 1999. "Phenotypic and Functional Characteristics of Circulating Monocytes of Elderly Persons." *Experimental Gerontology* 34 (8): 959–70. [https://doi.org/10.1016/s0531-5565\(99\)00065-0](https://doi.org/10.1016/s0531-5565(99)00065-0).
- Sadler, J. E. 2009. "Von Willebrand Factor Assembly and Secretion." *Journal of Thrombosis and Haemostasis: JTH* 7 Suppl 1 (July): 24–27. <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2009.03375.x>.
- Sakai, Takaaki, and Shinichiro Miura. 2019. "Effects of Sodium-Glucose Cotransporter 2 Inhibitor on Vascular Endothelial and Diastolic Function in Heart Failure With Preserved Ejection Fraction - Novel Prospective Cohort Study." *Circulation Reports* 1 (7): 286–95. <https://doi.org/10.1253/circrep.CR-19-0018>.
- Salvador, Ane M., Tania Nevers, Francisco Velázquez, Mark Aronovitz, Bonnie Wang, Ana Abadía Molina, Iris Z. Jaffe, Richard H. Karas, Robert M. Blanton, and Pilar Alcaide. 2016. "Intercellular Adhesion Molecule 1 Regulates Left Ventricular Leukocyte Infiltration, Cardiac Remodeling, and Function in Pressure Overload-Induced Heart Failure." *Journal of the American Heart Association* 5 (3): e003126. <https://doi.org/10.1161/JAHA.115.003126>.
- Samad, Fahumiya, and Wolfram Ruf. 2013a. "Inflammation, Obesity, and Thrombosis." *Blood* 122 (20): 3415. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-05-427708>.
- Sanders-van Wijk, Sandra, Jasper Tromp, Lauren Beussink-Nelson, Camilla Hage, Sara Svedlund, Antti Saraste, Stanley A. Swat, et al. 2020. "Proteomic Evaluation of the Comorbidity-Inflammation Paradigm in Heart Failure With Preserved Ejection Fraction: Results From the PROMIS-HFpEF Study." *Circulation* 142 (21): 2029–44. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.120.045810>.

- Sankaranarayanan, Rajiv, Kornél Kistamás, David J. Greensmith, Luigi A. Venetucci, and David A. Eisner. 2017. "Systolic [Ca²⁺]_i Regulates Diastolic Levels in Rat Ventricular Myocytes." *The Journal of Physiology* 595 (16): 5545–55. <https://doi.org/10.1113/JP274366>.
- Santema, Bernadet T., Michelle M. Y. Chan, Jasper Tromp, Martin Dokter, Haye H. van der Wal, Johanna E. Emmens, Janny Takens, et al. 2020. "The Influence of Atrial Fibrillation on the Levels of NT-proBNP versus GDF-15 in Patients with Heart Failure." *Clinical Research in Cardiology* 109 (3): 331–38. <https://doi.org/10.1007/s00392-019-01513-y>.
- Santhanakrishnan, Rajalakshmi, Na Wang, Martin G. Larson, Jared W. Magnani, David D. McManus, Steven A. Lubitz, Patrick T. Ellinor, et al. 2016. "Atrial Fibrillation Begets Heart Failure and Vice Versa: Temporal Associations and Differences in Preserved Versus Reduced Ejection Fraction." *Circulation* 133 (5): 484–92. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.115.018614>.
- Santos, Angela B. S., Gabriela Querejeta Roca, Brian Claggett, Nancy K. Sweitzer, Sanjiv J. Shah, Inder S. Anand, James C. Fang, et al. 2016. "Prognostic Relevance of Left Atrial Dysfunction in Heart Failure With Preserved Ejection Fraction." *Circulation. Heart Failure* 9 (4): e002763. <https://doi.org/10.1161/CIRCHEARTFAILURE.115.002763>.
- Sari, Ita Novita, Lan Thi Hanh Phi, Nayoung Jun, Yoseph Toni Wijaya, Sanghyun Lee, and Hyog Young Kwon. 2018. "Hedgehog Signaling in Cancer: A Prospective Therapeutic Target for Eradicating Cancer Stem Cells." *Cells* 7 (11): 208. <https://doi.org/10.3390/cells7110208>.
- Sartoretto, Juliano L., Hermann Kalwa, Michael D. Pluth, Stephen J. Lippard, and Thomas Michel. 2011. "Hydrogen Peroxide Differentially Modulates Cardiac Myocyte Nitric Oxide Synthesis." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108 (38): 15792–97. <https://doi.org/10.1073/pnas.1111331108>.
- Sartori, M. T., R. Vettor, G. De Pergola, V. De Mitrio, G. Saggiorato, P. Della Mea, G. M. Patrassi, A. M. Lombardi, R. Fabris, and A. Girolami. 2001. "Role of the 4G/5G Polymorphism of Pal-1 Gene Promoter on Pal-1 Levels in Obese Patients: Influence of Fat Distribution and Insulin-Resistance." *Thrombosis and Haemostasis* 86 (5): 1161–69.
- Sasaki, Nobunari, Junko Kurisu, and Mineko Kengaku. 2010. "Sonic Hedgehog Signaling Regulates Actin Cytoskeleton via Tiam1–Rac1 Cascade during Spine Formation." *Molecular and Cellular Neuroscience* 45 (4): 335–44. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2010.07.006>.
- Savchenko, A. S., K. Martinod, M. A. Seidman, S. L. Wong, J. I. Borissoff, G. Piazza, P. Libby, S. Z. Goldhaber, R. N. Mitchell, and D. D. Wagner. 2014. "Neutrophil Extracellular Traps Form Predominantly during the Organizing Stage of Human Venous Thromboembolism Development." *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 12 (6): 860–70. <https://doi.org/10.1111/jth.12571>.
- Sawdey, M S, and D J Loskutoff. 1991. "Regulation of Murine Type 1 Plasminogen Activator Inhibitor Gene Expression in Vivo. Tissue Specificity and Induction by Lipopolysaccharide, Tumor Necrosis Factor-Alpha, and Transforming Growth Factor-Beta." *Journal of Clinical Investigation* 88 (4): 1346–53.
- Scales, Suzie J., and Frederic J. de Sauvage. 2009. "Mechanisms of Hedgehog Pathway Activation in Cancer and Implications for Therapy." *Trends in Pharmacological Sciences* 30 (6): 303–12. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2009.03.007>.
- Scantlebury, Dawn C., and Barry A. Borlaug. 2011. "Why Are Women More Likely than Men to Develop Heart Failure with Preserved Ejection Fraction?" *Current Opinion in Cardiology* 26 (6): 562–68. <https://doi.org/10.1097/HCO.0b013e32834b7faf>.
- Schiller, N. B., P. M. Shah, M. Crawford, A. DeMaria, R. Devereux, H. Feigenbaum, H. Gutgesell, N. Reichek, D. Sahn, and I. Schnittger. 1989. "Recommendations for Quantitation of the Left Ventricle by Two-Dimensional Echocardiography. American Society of Echocardiography Committee on Standards, Subcommittee on Quantitation of Two-Dimensional Echocardiograms." *Journal of the American Society of Echocardiography: Official Publication of the American Society of Echocardiography* 2 (5): 358–67. [https://doi.org/10.1016/s0894-7317\(89\)80014-8](https://doi.org/10.1016/s0894-7317(89)80014-8).

- Schneider, David J. 2009. "Factors Contributing to Increased Platelet Reactivity in People with Diabetes." *Diabetes Care* 32 (4): 525–27. <https://doi.org/10.2337/dc08-1865>.
- Schrör, K. 1985. "Prostaglandins, Other Eicosanoids and Endothelial Cells." *Basic Research in Cardiology* 80 (5): 502–14. <https://doi.org/10.1007/BF01907914>.
- Schunkert, Heribert, Inke R. König, Sekar Kathiresan, Muredach P. Reilly, Themistocles L. Assimes, Hilma Holm, Michael Preuss, et al. 2011. "Large-Scale Association Analysis Identifies 13 New Susceptibility Loci for Coronary Artery Disease." *Nature Genetics* 43 (4): 333–38. <https://doi.org/10.1038/ng.784>.
- Schwarz, Konstantin, Muhammad Ayyaz Ul Haq, Bharat Sidhu, and Jim Nolan. 2018. "Cardiac Catheterization." *Medicine* 46 (8): 488–93. <https://doi.org/10.1016/j.mpmed.2018.05.014>.
- Schwinger, R. H., G. Münch, B. Bölck, P. Karczewski, E. G. Krause, and E. Erdmann. 1999. "Reduced Ca(2+)-Sensitivity of SERCA 2a in Failing Human Myocardium Due to Reduced Serin-16 Phospholamban Phosphorylation." *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 31 (3): 479–91. <https://doi.org/10.1006/jmcc.1998.0897>.
- Scimia, Maria Cecilia, Cecilia Hurtado, Saugata Ray, Scott Metzler, Ke Wei, Jianming Wang, Chris E. Woods, et al. 2012a. "APJ Acts as a Dual Receptor in Cardiac Hypertrophy." *Nature* 488 (7411): 394–98. <https://doi.org/10.1038/nature11263>.
- Seddon, Mike, Ajay M. Shah, and Barbara Casadei. 2007. "Cardiomyocytes as Effectors of Nitric Oxide Signalling." *Cardiovascular Research* 75 (2): 315–26. <https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2007.04.031>.
- Segers, Vincent F. M., Dirk L. Brutsaert, and Gilles W. De Keulenaer. 2018. "Cardiac Remodeling: Endothelial Cells Have More to Say Than Just NO." *Frontiers in Physiology* 9: 382. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00382>.
- Seidel, M., J. Winning, R. A. Claus, M. Bauer, and W. Lösche. 2009. "Beneficial Effect of Clopidogrel in a Mouse Model of Polymicrobial Sepsis." *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 7 (6): 1030–32. <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2009.03352.x>.
- Seidler, Sebastian, Henning W Zimmermann, Matthias Bartneck, Christian Trautwein, and Frank Tacke. 2010. "Age-Dependent Alterations of Monocyte Subsets and Monocyte-Related Chemokine Pathways in Healthy Adults." *BMC Immunology* 11 (June): 30. <https://doi.org/10.1186/1471-2172-11-30>.
- Selby, Donald E., Bradley M. Palmer, Martin M. LeWinter, and Markus Meyer. 2011. "Tachycardia-Induced Diastolic Dysfunction and Resting Tone in Myocardium From Patients With a Normal Ejection Fraction." *Journal of the American College of Cardiology* 58 (2): 147–54. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2010.10.069>.
- Semeraro, Fabrizio, Concetta T. Ammollo, James H. Morrissey, George L. Dale, Paul Friese, Naomi L. Esmon, and Charles T. Esmon. 2011. "Extracellular Histones Promote Thrombin Generation through Platelet-Dependent Mechanisms: Involvement of Platelet TLR2 and TLR4." *Blood* 118 (7): 1952–61. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-03-343061>.
- Serebruany, Victor L., Alex I. Malinin, Scott D. Jerome, David R. Lowry, Athol W. Morgan, David C. Sane, Jean-François Tanguay, Steven R. Steinhubl, and Christopher M. O'connor. 2003a. "Effects of Clopidogrel and Aspirin Combination versus Aspirin Alone on Platelet Aggregation and Major Receptor Expression in Patients with Heart Failure: The Plavix Use for Treatment Of Congestive Heart Failure (PLUTO-CHF) Trial." *American Heart Journal* 146 (4): 713–20. [https://doi.org/10.1016/S0002-8703\(03\)00260-6](https://doi.org/10.1016/S0002-8703(03)00260-6).
- Serné, Erik H., Renate T. de Jongh, Etto C. Eringa, Richard G. IJzerman, and Coen D.A. Stehouwer. 2007. "Microvascular Dysfunction." *Hypertension* 50 (1): 204–11. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.107.089680>.
- Sewduth, Raj N., Béatrice Jaspard-Vinassa, Claire Peghaire, Aude Guillabert, Nathalie Franzl, Frederic Larrieu-Lahargue, Catherine Moreau, et al. 2014. "The Ubiquitin Ligase PDZRN3 Is Required for Vascular Morphogenesis through Wnt/Planar Cell Polarity Signalling." *Nature Communications* 5 (1): 4832. <https://doi.org/10.1038/ncomms5832>.

- Sewduth, Raj N., H el ena Kovacic, B eatrice Jaspard-Vinassa, Vincent Jecko, Thomas Wavasseur, Nicolas Fritsch, Mathieu Pernot, et al. 2017. "PDZRN3 Destabilizes Endothelial Cell-Cell Junctions through a PKC -Containing Polarity Complex to Increase Vascular Permeability." *Science Signaling* 10 (464): eaag3209. <https://doi.org/10.1126/scisignal.aag3209>.
- Shah, Amil M. 2013. "Ventricular Remodeling in Heart Failure with Preserved Ejection Fraction." *Current Heart Failure Reports* 10 (4): 341–49. <https://doi.org/10.1007/s11897-013-0166-4>.
- Shah, Amil M., and Marc A. Pfeffer. 2012. "The Many Faces of Heart Failure with Preserved Ejection Fraction." *Nature Reviews. Cardiology* 9 (10): 555–56. <https://doi.org/10.1038/nrcardio.2012.123>.
- Shah, Sanjiv J., Barry A. Borlaug, Dalane W. Kitzman, Andrew D. McCulloch, Burns C. Blaxall, Rajiv Agarwal, Julio A. Chirinos, et al. 2020. "Research Priorities for Heart Failure With Preserved Ejection Fraction." *Circulation* 141 (12): 1001–26. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.119.041886>.
- Shah, Sanjiv J., Daniel H. Katz, Senthil Selvaraj, Michael A. Burke, Clyde W. Yancy, Mihai Gheorghide, Robert O. Bonow, Chiang-Ching Huang, and Rahul C. Deo. 2015. "Phenomapping for Novel Classification of Heart Failure with Preserved Ejection Fraction." *Circulation* 131 (3): 269–79. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.114.010637>.
- Shah, Sanjiv J, Carolyn S P Lam, Sara Svedlund, Antti Saraste, Camilla Hage, Ru-San Tan, Lauren Beussink-Nelson, et al. 2018a. "Prevalence and Correlates of Coronary Microvascular Dysfunction in Heart Failure with Preserved Ejection Fraction: PROMIS-HFpEF." *European Heart Journal* 39 (37): 3439–50. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehy531>.
- Shantsila, Eduard, Alena Shantsila, Andrew D. Blann, and Gregory Y. H. Lip. 2013. "Left Ventricular Fibrosis in Atrial Fibrillation." *The American Journal of Cardiology* 111 (7): 996–1001. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2012.12.005>.
- Shi, Xuanming, Zilai Zhang, Xiaoming Zhan, Mou Cao, Takashi Satoh, Shizuo Akira, Karl Shpargel, et al. 2014. "An Epigenetic Switch Induced by Shh Signalling Regulates Gene Activation during Development and Medulloblastoma Growth." *Nature Communications* 5 (November): 5425. <https://doi.org/10.1038/ncomms6425>.
- Shih, Lauren, David Kaplan, Larry W. Kraiss, T. Charles Casper, Robert C. Pendleton, Christopher L. Peters, Mark A. Supiano, Guy A. Zimmerman, Andrew S. Weyrich, and Matthew T. Rondina. 2016. "Platelet-Monocyte Aggregates and C-Reactive Protein Are Associated with VTE in Older Surgical Patients." *Scientific Reports* 6 (June): 27478. <https://doi.org/10.1038/srep27478>.
- Shim, Chi Young, Sungha Park, Donghoon Choi, Woo-In Yang, In-Jeong Cho, Eui-Young Choi, Namsik Chung, and Jong-Won Ha. 2011. "Sex Differences in Central Hemodynamics and Their Relationship to Left Ventricular Diastolic Function." *Journal of the American College of Cardiology* 57 (10): 1226–33. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2010.09.067>.
- Shimomura, I., T. Funahashi, M. Takahashi, K. Maeda, K. Kotani, T. Nakamura, S. Yamashita, et al. 1996. "Enhanced Expression of PAI-1 in Visceral Fat: Possible Contributor to Vascular Disease in Obesity." *Nature Medicine* 2 (7): 800–803. <https://doi.org/10.1038/nm0796-800>.
- Shin, Kunyoo, John Lee, Nini Guo, James Kim, Agnes Lim, Lishu Qu, Indira U. Mysorekar, and Philip A. Beachy. 2011. "Hedgehog/Wnt Feedback Supports Regenerative Proliferation of Epithelial Stem Cells in Bladder." *Nature* 472 (7341): 110–14. <https://doi.org/10.1038/nature09851>.
- Shohet, Ralph V., Yaz Y. Kisanuki, Xiao-Song Zhao, Zakir Siddiquee, Fatima Franco, and Masashi Yanagisawa. 2004. "Mice with Cardiomyocyte-Specific Disruption of the Endothelin-1 Gene Are Resistant to Hyperthyroid Cardiac Hypertrophy." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101 (7): 2088–93. <https://doi.org/10.1073/pnas.0307159101>.
- Shubeita, H E, P M McDonough, A N Harris, K U Knowlton, C C Glembotski, J H Brown, and K R Chien. 1990. "Endothelin Induction of Inositol Phospholipid Hydrolysis, Sarcomere Assembly, and Cardiac Gene Expression in Ventricular Myocytes. A Paracrine Mechanism for Myocardial Cell Hypertrophy." *Journal of Biological Chemistry* 265 (33): 20555–62. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(17\)30538-0](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(17)30538-0).

- Shunmoogam, Nelusha, Poobalan Naidoo, and Robert Chilton. 2018. "Paraoxonase (PON)-1: A Brief Overview on Genetics, Structure, Polymorphisms and Clinical Relevance." *Vascular Health and Risk Management* 14 (June): 137–43. <https://doi.org/10.2147/VHRM.S165173>.
- Sigafoos, Ashley N., Brooke D. Paradise, and Martin E. Fernandez-Zapico. 2021. "Hedgehog/GLI Signaling Pathway: Transduction, Regulation, and Implications for Disease." *Cancers* 13 (14): 3410. <https://doi.org/10.3390/cancers13143410>.
- Sikora, Marta, Ewa Bretes, Joanna Perła-Kaján, Izabela Lewandowska, Łukasz Marczak, and Hieronim Jakubowski. 2020. "Genetic Attenuation of Paraoxonase 1 Activity Induces Proatherogenic Changes in Plasma Proteomes of Mice and Humans." *Antioxidants* 9 (12): 1198. <https://doi.org/10.3390/antiox9121198>.
- Sillen, Machteld, and Paul J. Declerck. 2021. "A Narrative Review on Plasminogen Activator Inhibitor-1 and Its (Patho)Physiological Role: To Target or Not to Target?" *International Journal of Molecular Sciences* 22 (5): 2721. <https://doi.org/10.3390/ijms22052721>.
- Silverstein, M. D., J. A. Heit, D. N. Mohr, T. M. Petterson, W. M. O'Fallon, and L. J. Melton. 1998. "Trends in the Incidence of Deep Vein Thrombosis and Pulmonary Embolism: A 25-Year Population-Based Study." *Archives of Internal Medicine* 158 (6): 585–93. <https://doi.org/10.1001/archinte.158.6.585>.
- Simmonds, Steven J., Ilona Cuijpers, Stephane Heymans, and Elizabeth A. V. Jones. 2020. "Cellular and Molecular Differences between HFpEF and HFrEF: A Step Ahead in an Improved Pathological Understanding." *Cells* 9 (1): E242. <https://doi.org/10.3390/cells9010242>.
- Simpson, H. C., J. I. Mann, T. W. Meade, R. Chakrabarti, Y. Stirling, and L. Woolf. 1983. "Hypertriglyceridaemia and Hypercoagulability." *Lancet (London, England)* 1 (8328): 786–90. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(83\)91849-4](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(83)91849-4).
- Singer, Daniel E., Gregory W. Albers, James E. Dalen, Alan S. Go, Jonathan L. Halperin, and Warren J. Manning. 2004. "Antithrombotic Therapy in Atrial Fibrillation: The Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy." *Chest* 126 (3, Supplement): 429S-456S. https://doi.org/10.1378/chest.126.3_suppl.429S.
- Singh, Varun Parkash, Anjana Bali, Nirmal Singh, and Amteshwar Singh Jaggi. 2014. "Advanced Glycation End Products and Diabetic Complications." *The Korean Journal of Physiology & Pharmacology : Official Journal of the Korean Physiological Society and the Korean Society of Pharmacology* 18 (1): 1–14. <https://doi.org/10.4196/kjpp.2014.18.1.1>.
- Singh, Vivek P., Kenneth M. Baker, and Rajesh Kumar. 2008. "Activation of the Intracellular Renin-Angiotensin System in Cardiac Fibroblasts by High Glucose: Role in Extracellular Matrix Production." *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology* 294 (4): H1675-1684. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.91493.2007>.
- Siniarski, Aleksander, Aleksandra Gąsecka, Josip Borovac, Panteleimon E. Papakonstantinou, Dario Bongiovanni, Hanne Ehlinder, Michela Giustozzi, Rui Azevedo Guerreiro, and William A. E. Parker. 2023. "Blood Coagulation Disorders in Heart Failure: From Basic Science to Clinical Perspectives." *Journal of Cardiac Failure* 0 (0). <https://doi.org/10.1016/j.cardfail.2022.12.012>.
- Soeller, C., and M. B. Cannell. 1999. "Examination of the Transverse Tubular System in Living Cardiac Rat Myocytes by 2-Photon Microscopy and Digital Image-Processing Techniques." *Circulation Research* 84 (3): 266–75. <https://doi.org/10.1161/01.res.84.3.266>.
- Soga, Fumitaka, Hidekazu Tanaka, Kazuhiro Tatsumi, Yasuhide Mochizuki, Hiroyuki Sano, Hiromi Toki, Kensuke Matsumoto, et al. 2021. "Impact of Dapagliflozin on the Left Ventricular Diastolic Function in Diabetic Patients with Heart Failure Complicating Cardiovascular Risk Factors." *Internal Medicine* 60 (15): 2367–74. <https://doi.org/10.2169/internalmedicine.6127-20>.
- Solá, E., A. Vayá, M. Simó, A. Hernández-Mijares, C. Morillas, F. España, A. Estellés, and D. Corella. 2007. "Fibrinogen, Plasma Viscosity and Blood Viscosity in Obesity. Relationship with Insulin Resistance." *Clinical Hemorheology and Microcirculation* 37 (4): 309–18.

- Solomon, Scott D., John J. V. McMurray, Brian Claggett, Rudolf A. de Boer, David DeMets, Adrian F. Hernandez, Silvio E. Inzucchi, et al. 2022. "Dapagliflozin in Heart Failure with Mildly Reduced or Preserved Ejection Fraction." *The New England Journal of Medicine* 387 (12): 1089–98. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2206286>.
- Solomon, Scott D., Adel R. Rizkala, Jianjian Gong, Wenyan Wang, Inder S. Anand, Junbo Ge, Carolyn S. P. Lam, et al. 2017. "Angiotensin Receptor Neprilysin Inhibition in Heart Failure With Preserved Ejection Fraction: Rationale and Design of the PARAGON-HF Trial." *JACC. Heart Failure* 5 (7): 471–82. <https://doi.org/10.1016/j.jchf.2017.04.013>.
- Solomon, Scott D., Michael Zile, Burkert Pieske, Adriaan Voors, Amil Shah, Elisabeth Kraigher-Krainer, Victor Shi, et al. 2012. "The Angiotensin Receptor Neprilysin Inhibitor LCZ696 in Heart Failure with Preserved Ejection Fraction: A Phase 2 Double-Blind Randomised Controlled Trial." *Lancet (London, England)* 380 (9851): 1387–95. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)61227-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)61227-6).
- Song, Jane Y., Alexander M. Holtz, Justine M. Pinsky, and Benjamin L. Allen. 2015. "Distinct Structural Requirements for CDON and BOC in the Promotion of Hedgehog Signaling." *Developmental Biology* 402 (2): 239–52. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2015.03.015>.
- Song, Ming, Lu Han, Fang-fang Chen, Di Wang, Feng Wang, Lei Zhang, Zhi-hao Wang, Ming Zhong, Meng-xiong Tang, and Wei Zhang. 2018. "Adipocyte-Derived Exosomes Carrying Sonic Hedgehog Mediate M1 Macrophage Polarization-Induced Insulin Resistance via Ptch and PI3K Pathways." *Cellular Physiology and Biochemistry* 48 (4): 1416–32. <https://doi.org/10.1159/000492252>.
- Song, Na, Haijun Wang, Tengteng Gu, Jinbo Qi, Jun Yang, Yanyan Qiu, Qiuyue Chen, et al. 2018. "Sonic hedgehog-c-Jun N-terminal Kinase-zinc Finger Protein Gli1 Signaling Protects against High Glucose Concentration-induced Reactive Oxygen Species Generation in Human Fibroblasts." *Experimental and Therapeutic Medicine* 15 (6): 5084–90. <https://doi.org/10.3892/etm.2018.6074>.
- Song, Yu, Fuhai Li, Yamei Xu, Yuan Liu, Yanyan Wang, Xueting Han, Yuyuan Fan, et al. 2020. "Prognostic Value of sST2 in Patients with Heart Failure with Reduced, Mid-Range and Preserved Ejection Fraction." *International Journal of Cardiology* 304 (April): 95–100. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2020.01.039>.
- Sotomi, Yohei, Shungo Hikoso, Daisaku Nakatani, Hiroya Mizuno, Katsuki Okada, Tomoharu Dohi, Tetsuhisa Kitamura, et al. 2021. "Sex Differences in Heart Failure With Preserved Ejection Fraction." *Journal of the American Heart Association* 10 (5): e018574. <https://doi.org/10.1161/JAHA.120.018574>.
- Spinale, Francis G. 2002. "Matrix Metalloproteinases." *Circulation Research* 90 (5): 520–30. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000013290.12884.A3>.
- Srivaratharajah, Kajenny, Thais Coutinho, Robert deKemp, Peter Liu, Haissam Haddad, Ellamae Stadnick, Ross A. Davies, et al. 2016. "Reduced Myocardial Flow in Heart Failure Patients With Preserved Ejection Fraction." *Circulation. Heart Failure* 9 (7): e002562. <https://doi.org/10.1161/CIRCHEARTFAILURE.115.002562>.
- Stahrenberg, Raoul, Frank Edelmann, Meinhard Mende, Anke Kockskämper, Hans-Dirk Düngen, Claus Lüers, Lutz Binder, et al. 2010. "The Novel Biomarker Growth Differentiation Factor 15 in Heart Failure with Normal Ejection Fraction." *European Journal of Heart Failure* 12 (12): 1309–16. <https://doi.org/10.1093/eurjhf/hfq151>.
- Stark, Konstantin, and Steffen Massberg. 2021. "Interplay between Inflammation and Thrombosis in Cardiovascular Pathology." *Nature Reviews Cardiology* 18 (9): 666–82. <https://doi.org/10.1038/s41569-021-00552-1>.
- Stegenga, Michiel E., Saskia N. van der Crabben, Marcel Levi, Alex F. de Vos, Michael W. Tanck, Hans P. Sauerwein, and Tom van der Poll. 2006. "Hyperglycemia Stimulates Coagulation, Whereas Hyperinsulinemia Impairs Fibrinolysis in Healthy Humans." *Diabetes* 55 (6): 1807–12. <https://doi.org/10.2337/db05-1543>.

- Stein, Paul D., Afzal Beemath, and Ronald E. Olson. 2005. "Obesity as a Risk Factor in Venous Thromboembolism." *The American Journal of Medicine* 118 (9): 978–80. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2005.03.012>.
- Streja, Dan, Pamela Cressey, and Simon W. Rabkin. 2003. "Associations between Inflammatory Markers, Traditional Risk Factors, and Complications in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus." *Journal of Diabetes and Its Complications* 17 (3): 120–27. [https://doi.org/10.1016/s1056-8727\(02\)00204-0](https://doi.org/10.1016/s1056-8727(02)00204-0).
- Streng, Koen W., Jan F. Nauta, Hans L. Hillege, Stefan D. Anker, John G. Cleland, Kenneth Dickstein, Gerasimos Filippatos, et al. 2018. "Non-Cardiac Comorbidities in Heart Failure with Reduced, Mid-Range and Preserved Ejection Fraction." *International Journal of Cardiology* 271 (November): 132–39. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2018.04.001>.
- Su, Yazhen, Hao Xing, Jie Kang, Linkun Bai, and Liyun Zhang. 2022. "Role of the Hedgehog Signaling Pathway in Rheumatic Diseases: An Overview." *Frontiers in Immunology* 13. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2022.940455>.
- Sucato, Vincenzo, Salvatore Evola, Giuseppina Novo, Angela Sansone, Angelo Quagliana, Giuseppe Andolina, Pasquale Assennato, and Salvatore Novo. 2015. "Angiographic Evaluation of Coronary Microvascular Dysfunction in Patients with Heart Failure and Preserved Ejection Fraction." *Microcirculation (New York, N.Y.: 1994)* 22 (7): 528–33. <https://doi.org/10.1111/micc.12223>.
- Sui, Xizhong, Hongchao Wei, and Dacheng Wang. 2015. "Novel Mechanism of Cardiac Protection by Valsartan: Synergetic Roles of TGF- β 1 and HIF-1 α in Ang II-Mediated Fibrosis after Myocardial Infarction." *Journal of Cellular and Molecular Medicine* 19 (8): 1773–82. <https://doi.org/10.1111/jcmm.12551>.
- Sukriti, Sukriti, Mohammad Tauseef, Pascal Yazbeck, and Dolly Mehta. 2014. "Mechanisms Regulating Endothelial Permeability." *Pulmonary Circulation* 4 (4): 535–51. <https://doi.org/10.1086/677356>.
- Sun, Mei, Manyin Chen, Fayez Dawood, Urszula Zurawska, Jeff Y. Li, Thomas Parker, Zamaneh Kassiri, et al. 2007. "Tumor Necrosis Factor-Alpha Mediates Cardiac Remodeling and Ventricular Dysfunction after Pressure Overload State." *Circulation* 115 (11): 1398–1407. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.643585>.
- Sun, Xuetao, Blessing Nkenkor, Olya Mastikhina, Kayla Soon, and Sara S. Nunes. 2020. "Endothelium-Mediated Contributions to Fibrosis." *Seminars in Cell & Developmental Biology* 101 (May): 78–86. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2019.10.015>.
- Svärd, Jessica, Karin Heby-Henricson, Madelen Persson-Lek, Björn Rozell, Matthias Lauth, Asa Bergström, Johan Ericson, Rune Toftgård, and Stephan Teglund. 2006. "Genetic Elimination of Suppressor of Fused Reveals an Essential Repressor Function in the Mammalian Hedgehog Signaling Pathway." *Developmental Cell* 10 (2): 187–97. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2005.12.013>.
- Sweeney, Joseph D., and Lynne A. Hoernig. 1993. "Age-Dependent Effect on the Level of Factor IX." *American Journal of Clinical Pathology* 99 (6): 687–88. <https://doi.org/10.1093/ajcp/99.6.687>.
- Sweeney, Mark, Ben Corden, and Stuart A Cook. 2020. "Targeting Cardiac Fibrosis in Heart Failure with Preserved Ejection Fraction: Mirage or Miracle?" *EMBO Molecular Medicine* 12 (10): e10865. <https://doi.org/10.15252/emmm.201910865>.
- Sweitzer, N. K., and R. L. Moss. 1993. "Determinants of Loaded Shortening Velocity in Single Cardiac Myocytes Permeabilized with Alpha-Hemolysin." *Circulation Research* 73 (6): 1150–62. <https://doi.org/10.1161/01.res.73.6.1150>.
- Swiderska-Syn, M., W. K. Syn, G. Xie, L. Krüger, M. V. Machado, G. Karaca, G. A. Michelotti, S. S. Choi, R. T. Premont, and A. M. Diehl. 2014. "Myofibroblastic Cells Function as Progenitors to Regenerate Murine Livers after Partial Hepatectomy." *Gut* 63 (8): 1333–44. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2013-305962>.

- Swiderska-Syn, Marzena, Guanhua Xie, Gregory A. Michelotti, Mark L. Jewell, Richard T. Premont, Wing-Kin Syn, and Anna Mae Diehl. 2016. "Hedgehog Regulates Yes-Associated Protein 1 in Regenerating Mouse Liver." *Hepatology (Baltimore, Md.)* 64 (1): 232–44. <https://doi.org/10.1002/hep.28542>.
- Swinne, Christian J., Edward P. Shapiro, Sandra D. Lima, and Jerome L. Fleg. 1992. "Age-Associated Changes in Left Ventricular Diastolic Performance during Isometric Exercise in Normal Subjects." *The American Journal of Cardiology* 69 (8): 823–26. [https://doi.org/10.1016/0002-9149\(92\)90518-4](https://doi.org/10.1016/0002-9149(92)90518-4).
- Szkandera, Joanna, Tobias Kiesslich, Johannes Haybaeck, Armin Gerger, and Martin Pichler. 2013. "Hedgehog Signaling Pathway in Ovarian Cancer." *International Journal of Molecular Sciences* 14 (1): 1179–96. <https://doi.org/10.3390/ijms14011179>.
- Szokodi, István, Pasi Tavi, Gábor Földes, Sari Voutilainen-Mylylä, Mika Ilves, Heikki Tokola, Sampsa Pikkarainen, et al. 2002. "Apelin, the Novel Endogenous Ligand of the Orphan Receptor APJ, Regulates Cardiac Contractility." *Circulation Research* 91 (5): 434–40. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000033522.37861.69>.
- Tadic, Marijana, and Cesare Cuspidi. 2019. "Obesity and Heart Failure with Preserved Ejection Fraction: A Paradox or Something Else?" *Heart Failure Reviews* 24 (3): 379–85. <https://doi.org/10.1007/s10741-018-09766-x>.
- Taipale, J., and P. A. Beachy. 2001. "The Hedgehog and Wnt Signalling Pathways in Cancer." *Nature* 411 (6835): 349–54. <https://doi.org/10.1038/35077219>.
- Taipale, J., M. K. Cooper, T. Maiti, and P. A. Beachy. 2002. "Patched Acts Catalytically to Suppress the Activity of Smoothed." *Nature* 418 (6900): 892–96. <https://doi.org/10.1038/nature00989>.
- Takac, Ina, Katrin Schröder, Leilei Zhang, Bernard Lardy, Narayana Anilkumar, J. David Lambeth, Ajay M. Shah, Francoise Morel, and Ralf P. Brandes. 2011. "The E-Loop Is Involved in Hydrogen Peroxide Formation by the NADPH Oxidase Nox4." *The Journal of Biological Chemistry* 286 (15): 13304–13. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.192138>.
- Takada, Y., F. Shinkai, S. Kondo, S. Yamamoto, H. Tsuboi, R. Korenaga, and J. Ando. 1994. "Fluid Shear Stress Increases the Expression of Thrombomodulin by Cultured Human Endothelial Cells." *Biochemical and Biophysical Research Communications* 205 (2): 1345–52. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1994.2813>.
- Takeshita, Kyosuke, Koji Yamamoto, Masafumi Ito, Takahisa Kondo, Tadashi Matsushita, Makoto Hirai, Tetsuhito Kojima, et al. 2002. "Increased Expression of Plasminogen Activator Inhibitor-1 with Fibrin Deposition in a Murine Model of Aging, 'Klotho' Mouse." *Seminars in Thrombosis and Hemostasis* 28 (6): 545–54. <https://doi.org/10.1055/s-2002-36699>.
- Takimoto, Eiki, Hunter C. Champion, Manxiang Li, Shuxun Ren, E. Rene Rodriguez, Barbara Tavazzi, Giuseppe Lazzarino, et al. 2005. "Oxidant Stress from Nitric Oxide Synthase-3 Uncoupling Stimulates Cardiac Pathologic Remodeling from Chronic Pressure Load." *The Journal of Clinical Investigation* 115 (5): 1221–31. <https://doi.org/10.1172/JCI21968>.
- Tamaki, Shunsuke, Yoshiyuki Nagai, Ryu Shutta, Daisaku Masuda, Shizuya Yamashita, Masahiro Seo, Takahisa Yamada, et al. 2023. "Combination of Neutrophil-to-Lymphocyte and Platelet-to-Lymphocyte Ratios as a Novel Predictor of Cardiac Death in Patients With Acute Decompensated Heart Failure With Preserved Left Ventricular Ejection Fraction: A Multicenter Study." *Journal of the American Heart Association* 12 (1): e026326. <https://doi.org/10.1161/JAHA.122.026326>.
- Tan, Yi, Zhiguo Zhang, Chao Zheng, Kupper A. Wintergerst, Bradley B. Keller, and Lu Cai. 2020. "Mechanisms of Diabetic Cardiomyopathy and Potential Therapeutic Strategies: Preclinical and Clinical Evidence." *Nature Reviews. Cardiology* 17 (9): 585–607. <https://doi.org/10.1038/s41569-020-0339-2>.
- Tanaka, Kenichi A., Nigel S. Key, and Jerrold H. Levy. 2009. "Blood Coagulation: Hemostasis and Thrombin Regulation." *Anesthesia and Analgesia* 108 (5): 1433–46. <https://doi.org/10.1213/ane.0b013e31819bcc9c>.

- Tanaka, Komei, Richard M. Wilson, Eric E. Essick, Jennifer L. Duffen, Philipp E. Scherer, Noriyuki Ouchi, and Flora Sam. 2014. "Effects of Adiponectin on Calcium-Handling Proteins in Heart Failure With Preserved Ejection Fraction." *Circulation: Heart Failure* 7 (6): 976–85. <https://doi.org/10.1161/CIRCHEARTFAILURE.114.001279>.
- Tanaka, Suguru, Shu-ichi Fujita, Shun Kizawa, Hideaki Morita, and Nobukazu Ishizaka. 2016. "Association between FGF23, α -Klotho, and Cardiac Abnormalities among Patients with Various Chronic Kidney Disease Stages." *PLOS ONE* 11 (7): e0156860. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0156860>.
- Tang, Xinmiao, Peiwei Wang, Rongli Zhang, Ipppei Watanabe, Eugene Chang, Vinesh Vinayachandran, Lalitha Nayak, et al. 2022. "KLF2 Regulates Neutrophil Activation and Thrombosis in Cardiac Hypertrophy and Heart Failure Progression." *The Journal of Clinical Investigation* 132 (3): e147191. <https://doi.org/10.1172/JCI147191>.
- Teng, Hua, Michael Chopp, Ann Hozeska-Solgot, Lihong Shen, Mei Lu, Clark Tang, and Zheng Gang Zhang. 2012. "Tissue Plasminogen Activator and Plasminogen Activator Inhibitor 1 Contribute to Sonic Hedgehog-Induced in Vitro Cerebral Angiogenesis." *PLoS One* 7 (3): e33444. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033444>.
- Tenzen, Toyooki, Benjamin L. Allen, Francesca Cole, Jong-Sun Kang, Robert S. Krauss, and Andrew P. McMahon. 2006. "The Cell Surface Membrane Proteins Cdo and Boc Are Components and Targets of the Hedgehog Signaling Pathway and Feedback Network in Mice." *Developmental Cell* 10 (5): 647–56. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2006.04.004>.
- Teperino, Raffaele, Sabine Amann, Martina Bayer, Sean L. McGee, Andrea Loipetzberger, Timothy Connor, Carsten Jaeger, et al. 2012. "Hedgehog Partial Agonism Drives Warburg-like Metabolism in Muscle and Brown Fat." *Cell* 151 (2): 414–26. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.09.021>.
- Tevlin, Ruth, Eun Young Seo, Owen Marecic, Adrian McArdle, Xinming Tong, Bryan Zimdahl, Andrey Malkovskiy, et al. 2017. "Pharmacological Rescue of Diabetic Skeletal Stem Cell Niches." *Science Translational Medicine* 9 (372): eaag2809. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aag2809>.
- Thayer, Sarah P., Marina Pasca di Magliano, Patrick W. Heiser, Corinne M. Nielsen, Drucilla J. Roberts, Gregory Y. Lauwers, Yan Ping Qi, et al. 2003. "Hedgehog Is an Early and Late Mediator of Pancreatic Cancer Tumorigenesis." *Nature* 425 (6960): 851–56. <https://doi.org/10.1038/nature02009>.
- Thibert, Chantal, Marie-Aimée Teillet, Françoise Lapointe, Laetitia Mazelin, Nicole M. Le Douarin, and Patrick Mehlen. 2003. "Inhibition of Neuroepithelial Patched-Induced Apoptosis by Sonic Hedgehog." *Science (New York, N.Y.)* 301 (5634): 843–46. <https://doi.org/10.1126/science.1085405>.
- Thomas, Douglas D., Xiaoping Liu, Stephen P. Kantrow, and Jack R. Lancaster. 2001. "The Biological Lifetime of Nitric Oxide: Implications for the Perivascular Dynamics of NO and O₂." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98 (1): 355–60. <https://doi.org/10.1073/pnas.98.1.355>.
- Thomas, M. K., J. H. Lee, N. Rastalsky, and J. F. Habener. 2001. "Hedgehog Signaling Regulation of Homeodomain Protein Islet Duodenum Homeobox-1 Expression in Pancreatic Beta-Cells." *Endocrinology* 142 (3): 1033–40. <https://doi.org/10.1210/endo.142.3.8007>.
- Thomas, M. K., N. Rastalsky, J. H. Lee, and J. F. Habener. 2000. "Hedgehog Signaling Regulation of Insulin Production by Pancreatic Beta-Cells." *Diabetes* 49 (12): 2039–47. <https://doi.org/10.2337/diabetes.49.12.2039>.
- Thorin, Eric, and David J. Webb. 2010. "Endothelium-Derived Endothelin-1." *Pflugers Archiv : European Journal of Physiology* 459 (6): 951–58. <https://doi.org/10.1007/s00424-009-0763-y>.
- Tian, Hua, Christopher A. Callahan, Kelly J. DuPree, Walter C. Darbonne, Christina P. Ahn, Suzie J. Scales, and Frederic J. de Sauvage. 2009. "Hedgehog Signaling Is Restricted to the Stromal Compartment during Pancreatic Carcinogenesis." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106 (11): 4254–59. <https://doi.org/10.1073/pnas.0813203106>.

- Tibrewala, Anjan, and Clyde W. Yancy. 2019. "Heart Failure with Preserved Ejection Fraction in Women." *Heart Failure Clinics, Heart Failure in Women*, 15 (1): 9–18. <https://doi.org/10.1016/j.hfc.2018.08.002>.
- Tilly, Martijn J, Sven Geurts, Angelo M Pezzullo, Wichor M Bramer, Natasja M S de Groot, Maryam Kavousi, and Moniek P M de Maat. 2023. "The Association of Coagulation and Atrial Fibrillation: A Systematic Review and Meta-Analysis." *EP Europace* 25 (1): 28–39. <https://doi.org/10.1093/europace/euac130>.
- Tirziu, Daniela, Emmanuel Chorianopoulos, Karen L. Moodie, Robert T. Palac, Zhen W. Zhuang, Marc Tjwa, Carmen Roncal, et al. 2007. "Myocardial Hypertrophy in the Absence of External Stimuli Is Induced by Angiogenesis in Mice." *The Journal of Clinical Investigation* 117 (11): 3188–97. <https://doi.org/10.1172/JCI32024>.
- Tita-Nwa, Freddy, Angelo Bos, Abdul Adjei, William B. Ershler, Dan L. Longo, and Luigi Ferrucci. 2010. "Correlates of D-Dimer in Older Persons." *Aging Clinical and Experimental Research* 22 (1): 20–23.
- Tomanek, Robert J. 2022. "The Coronary Capillary Bed and Its Role in Blood Flow and Oxygen Delivery: A Review." *Anatomical Record (Hoboken, N.j. : 2007)* 305 (11): 3199–3211. <https://doi.org/10.1002/ar.24951>.
- Tonelli, Marcello, Natasha Wiebe, Bruce Culleton, Andrew House, Chris Rabbat, Mei Fok, Finlay McAlister, and Amit X. Garg. 2006. "Chronic Kidney Disease and Mortality Risk: A Systematic Review." *Journal of the American Society of Nephrology: JASN* 17 (7): 2034–47. <https://doi.org/10.1681/ASN.2005101085>.
- Tracy, R. P., A. M. Arnold, W. Ettinger, L. Fried, E. Meilahn, and P. Savage. 1999. "The Relationship of Fibrinogen and Factors VII and VIII to Incident Cardiovascular Disease and Death in the Elderly: Results from the Cardiovascular Health Study." *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 19 (7): 1776–83. <https://doi.org/10.1161/01.atv.19.7.1776>.
- Tracy, R. P., E. G. Bovill, L. P. Fried, G. Heiss, M. H. Lee, J. F. Polak, B. M. Psaty, and P. J. Savage. 1992. "The Distribution of Coagulation Factors VII and VIII and Fibrinogen in Adults over 65 Years. Results from the Cardiovascular Health Study." *Annals of Epidemiology* 2 (4): 509–19. [https://doi.org/10.1016/1047-2797\(92\)90100-5](https://doi.org/10.1016/1047-2797(92)90100-5).
- Tribouilloy, Christophe, Dan Rusinaru, Haifa Mahjoub, Vicky Soulière, Franck Lévy, Marcel Peltier, Michel Slama, and Ziad Massy. 2008. "Prognosis of Heart Failure with Preserved Ejection Fraction: A 5 Year Prospective Population-Based Study." *European Heart Journal* 29 (3): 339–47. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehm554>.
- Trippel, Tobias Daniel, Meinhard Mende, Hans-Dirk Düngen, Djawid Hashemi, Johannes Petutschnigg, Kathleen Nolte, Christoph Herrmann-Lingen, et al. 2021. "The Diagnostic and Prognostic Value of Galectin-3 in Patients at Risk for Heart Failure with Preserved Ejection Fraction: Results from the DIAST-CHF Study." *ESC Heart Failure* 8 (2): 829–41. <https://doi.org/10.1002/ehf2.13174>.
- Trippel, Tobias Daniel, Sophie Van Linthout, Dirk Westermann, Ruhdja Lindhorst, Anja Sandek, Stefanie Ernst, Anna Bobenko, et al. 2018. "Investigating a Biomarker-Driven Approach to Target Collagen Turnover in Diabetic Heart Failure with Preserved Ejection Fraction Patients. Effect of Torasemide versus Furosemide on Serum C-Terminal Propeptide of Procollagen Type I (DROP-PIP Trial)." *European Journal of Heart Failure* 20 (3): 460–70. <https://doi.org/10.1002/ejhf.960>.
- Trochu, Jean-Noël, Jean-Brieuc Bouhour, Gabor Kaley, and Thomas H. Hintze. 2000. "Role of Endothelium-Derived Nitric Oxide in the Regulation of Cardiac Oxygen Metabolism." *Circulation Research* 87 (12): 1108–17. <https://doi.org/10.1161/01.RES.87.12.1108>.
- Tromp, Jasper, Mohsin A. F. Khan, IJsbrand T. Klip, Sven Meyer, Rudolf A. de Boer, Tiny Jaarsma, Hans Hillege, Dirk J. van Veldhuisen, Peter van der Meer, and Adriaan A. Voors. 2017. "Biomarker Profiles in Heart Failure Patients With Preserved and Reduced Ejection Fraction." *Journal of the American Heart Association* 6 (4): e003989. <https://doi.org/10.1161/JAHA.116.003989>.

- Tromp, Jasper, Li Shen, Pardeep S. Jhund, Inder S. Anand, Peter E. Carson, Akshay S. Desai, Christopher B. Granger, et al. 2019. "Age-Related Characteristics and Outcomes of Patients With Heart Failure With Preserved Ejection Fraction." *Journal of the American College of Cardiology* 74 (5): 601–12. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2019.05.052>.
- Tromp, Jasper, Wan Ting Tay, Wouter Ouwerkerk, Tiew-Hwa Katherine Teng, Jonathan Yap, Michael R. MacDonald, Kirsten Leineweber, et al. 2018. "Multimorbidity in Patients with Heart Failure from 11 Asian Regions: A Prospective Cohort Study Using the ASIAN-HF Registry." *PLoS Medicine* 15 (3): e1002541. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1002541>.
- Tsai, Albert W., Mary Cushman, Wayne D. Rosamond, Susan R. Heckbert, Joseph F. Polak, and Aaron R. Folsom. 2002. "Cardiovascular Risk Factors and Venous Thromboembolism Incidence: The Longitudinal Investigation of Thromboembolism Etiology." *Archives of Internal Medicine* 162 (10): 1182–89. <https://doi.org/10.1001/archinte.162.10.1182>.
- Tsao, Connie W., Aaron W. Aday, Zaid I. Almarzooq, Alvaro Alonso, Andrea Z. Beaton, Marcio S. Bittencourt, Amelia K. Boehme, et al. 2022. "Heart Disease and Stroke Statistics—2022 Update: A Report From the American Heart Association." *Circulation* 145 (8): e153–639. <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000001052>.
- Tsao, Connie W., Aaron W. Aday, Zaid I. Almarzooq, Cheryl A. M. Anderson, Pankaj Arora, Christy L. Avery, Carissa M. Baker-Smith, et al. 2023. "Heart Disease and Stroke Statistics-2023 Update: A Report From the American Heart Association." *Circulation* 147 (8): e93–621. <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000001123>.
- Tschoner, A., W. Sturm, J. Engl, S. Kaser, M. Laimer, E. Laimer, A. Klaus, J. R. Patsch, and C. F. Ebenbichler. 2012. "Plasminogen Activator Inhibitor 1 and Visceral Obesity during Pronounced Weight Loss after Bariatric Surgery." *Nutrition, Metabolism, and Cardiovascular Diseases: NMCD* 22 (4): 340–46. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2010.07.009>.
- Tsutsui, Masato, Akihide Tanimoto, Masahito Tamura, Hiroshi Mukae, Nobuyuki Yanagihara, Hiroaki Shimokawa, and Yutaka Otsuji. 2015. "Significance of Nitric Oxide Synthases: Lessons from Triple Nitric Oxide Synthases Null Mice." *Journal of Pharmacological Sciences* 127 (1): 42–52. <https://doi.org/10.1016/j.jphs.2014.10.002>.
- Tukachinsky, Hanna, Ryan P Kuzmickas, Cindy Y Jao, Jing Liu, and Adrian Salic. 2012. "Dispatched and Scube Mediate the Efficient Secretion of the Cholesterol-Modified Hedgehog Ligand." *Cell Reports* 2 (2): 308–20. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2012.07.010>.
- Tuleta, Izabela, and Nikolaos G. Frangogiannis. 2021. "Diabetic Fibrosis." *Biochimica Et Biophysica Acta. Molecular Basis of Disease* 1867 (4): 166044. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2020.166044>.
- Turner, Nancy A., Leticia Nolasco, Zaverio M. Ruggeri, and Joel L. Moake. 2009. "Endothelial Cell ADAMTS-13 and VWF: Production, Release, and VWF String Cleavage." *Blood* 114 (24): 5102–11. <https://doi.org/10.1182/blood-2009-07-231597>.
- Turner, Nigel, Gregory J. Cooney, Edward W. Kraegen, and Clinton R. Bruce. 2014. "Fatty Acid Metabolism, Energy Expenditure and Insulin Resistance in Muscle." *Journal of Endocrinology* 220 (2): T61–79. <https://doi.org/10.1530/JOE-13-0397>.
- Uden, Anne Birgitte, Erika Holmberg, Barbro Lundh-Rozell, Mona Ståhle-Bäckdahl, Peter G. Zaphiropoulos, Rune Toftgård, and Igor Vořechovsky. 1996. "Mutations in the Human Homologue of Drosophila Patched (PTCH) in Basal Cell Carcinomas and the Gorlin Syndrome: Different in Vivo Mechanisms of PTCH Inactivation1." *Cancer Research* 56 (20): 4562–65.
- Unger, Erin D., Ruth F. Dubin, Rajat Deo, Vistasp Daruwalla, Julie L. Friedman, Crystal Medina, Lauren Beussink, Benjamin H. Freed, and Sanjiv J. Shah. 2016. "Association of Chronic Kidney Disease with Abnormal Cardiac Mechanics and Adverse Outcomes in Patients with Heart Failure and Preserved Ejection Fraction." *European Journal of Heart Failure* 18 (1): 103–12. <https://doi.org/10.1002/ejhf.445>.
- Vaidyula, Vijender R., A. Koneti Rao, Maria Mozzoli, Carol Homko, Peter Cheung, and Guenther Boden. 2006. "Effects of Hyperglycemia and Hyperinsulinemia on Circulating Tissue Factor Procoagulant Activity and Platelet CD40 Ligand." *Diabetes* 55 (1): 202–8. <https://doi.org/10.2337/diabetes.55.01.06.db05-1026>

- Valero-Muñoz, María, Eng Leng Saw, Ryan M. Hekman, Benjamin C. Blum, Zaynab Hourani, Henk Granzier, Andrew Emili, and Flora Sam. 2022. "Proteomic and Phosphoproteomic Profiling in Heart Failure with Preserved Ejection Fraction (HFpEF)." *Frontiers in Cardiovascular Medicine* 9 (August): 966968. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2022.966968>.
- Valle, G, G Faulkner, A De Antoni, B Pacchioni, A Pallavicini, D Pandolfo, N Tiso, S Toppo, S Trevisan, and G Lanfranchi. 1997. "Telethonin, a Novel Sarcomeric Protein of Heart and Skeletal Muscle." *FEBS Letters* 415 (2): 163–68. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(97\)01108-3](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(97)01108-3).
- Vallée, Alexandre, Amélie Gabet, Clémence Grave, Emmanuel Sorbets, Jacques Blacher, and Valérie Olié. 2020. "Patterns of Hypertension Management in France in 2015: The ESTEBAN Survey." *The Journal of Clinical Hypertension* 22 (4): 663–72. <https://doi.org/10.1111/jch.13834>.
- Varga-Szabo, David, Irina Pleines, and Bernhard Nieswandt. 2008. "Cell Adhesion Mechanisms in Platelets." *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 28 (3): 403–12. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.107.150474>.
- Varjosalo, Markku, and Jussi Taipale. 2008. "Hedgehog: Functions and Mechanisms." *Genes & Development* 22 (18): 2454–72. <https://doi.org/10.1101/gad.1693608>.
- Varnat, Frédéric, Arnaud Duquet, Monica Malerba, Marie Zbinden, Christophe Mas, Pascal Gervaz, and Ariel Ruiz i Altaba. 2009. "Human Colon Cancer Epithelial Cells Harbour Active HEDGEHOG-GLI Signalling That Is Essential for Tumour Growth, Recurrence, Metastasis and Stem Cell Survival and Expansion." *EMBO Molecular Medicine* 1 (6–7): 338–51. <https://doi.org/10.1002/emmm.200900039>.
- Varo, Nerea, Peter Libby, Rebecca Nuzzo, Joseph Italiano, Alessandro Doria, and Uwe Schönbeck. 2005. "Elevated Release of sCD40L from Platelets of Diabetic Patients by Thrombin, Glucose and Advanced Glycation End Products." *Diabetes & Vascular Disease Research* 2 (2): 81–87. <https://doi.org/10.3132/dvdr.2005.014>.
- Vasques-Nóvoa, Francisco, António Angélico-Gonçalves, José M.G. Alvarenga, João Nobrega, Rui J. Cerqueira, Jennifer Mancio, Adelino F. Leite-Moreira, and Roberto Roncon-Albuquerque Jr. 2022. "Myocardial Oedema: Pathophysiological Basis and Implications for the Failing Heart." *ESC Heart Failure* 9 (2): 958–76. <https://doi.org/10.1002/ehf2.13775>.
- Vaughan, Douglas E., Rahul Rai, Sadiya S. Khan, Mesut Eren, and Asish K. Ghosh. 2017. "Plasminogen Activator Inhibitor-1 Is a Marker and a Mediator of Senescence." *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 37 (8): 1446–52. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.117.309451>.
- Vaux, Keith K., Marilyn C. Jones, Kurt Benirschke, Lynne M. Bird, and Kenneth L. Jones. 2005. "Megalourethra: A Report of Three Cases Associated with Maternal Diabetes and a Review of the Literature--Is Sonic Hedgehog the Common Pathway?" *American Journal of Medical Genetics. Part A* 132A (3): 314–17. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.30286>.
- Verkleij, Chantal J. N., Roderick E. de Bruijn, Eelco W. Meesters, Victor E. A. Gerdes, Joost C. M. Meijers, and Pauline F. Marx. 2011. "The Hemostatic System in Patients with Type 2 Diabetes with and without Cardiovascular Disease." *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis: Official Journal of the International Academy of Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis* 17 (6): E57-63. <https://doi.org/10.1177/1076029610384112>.
- Vigil-Garcia, Marta, Charlotte J. Demkes, Joep E. C. Eding, Danielle Versteeg, Hesther de Ruiten, Ilaria Perini, Lieneke Kooijman, et al. 2021. "Gene Expression Profiling of Hypertrophic Cardiomyocytes Identifies New Players in Pathological Remodelling." *Cardiovascular Research* 117 (6): 1532–45. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvaa233>.
- Vignon, P. 2007. "Évaluation des pressions de remplissage ventriculaire gauche par échocardiographie-doppler." *Réanimation* 16 (2): 139–48. <https://doi.org/10.1016/j.reaurg.2007.02.005>.
- Vignon-Zellweger, Nicolas, Katharina Relle, Elodie Kienlen, Markus Alter, Patrick Seider, Juliya Sharkovska, Susi Heiden, et al. 2011. "Endothelin-1 Overexpression Restores Diastolic Function in eNOS Knockout Mice." *Journal of Hypertension* 29 (5): 961–70. <https://doi.org/10.1097/HJH.0b013e3283450770>.

- Vignon-Zellweger, Nicolas, Katharina Relle, Jan Rahnenführer, Karima Schwab, Berthold Hocher, and Franz Theuring. 2014. "Endothelin-1 Overexpression and Endothelial Nitric Oxide Synthase Knock-out Induce Different Pathological Responses in the Heart of Male and Female Mice." *Life Sciences* 118 (2): 219–25. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2013.12.003>.
- Vinik, A. I., T. Erbas, T. S. Park, R. Nolan, and G. L. Pittenger. 2001. "Platelet Dysfunction in Type 2 Diabetes." *Diabetes Care* 24 (8): 1476–85. <https://doi.org/10.2337/diacare.24.8.1476>.
- Violi, Francesco, and Lorenzo Loffredo. 2012. "Thromboembolism or Atherothromboembolism in Atrial Fibrillation?" *Circulation: Arrhythmia and Electrophysiology* 5 (6): 1053–55. <https://doi.org/10.1161/CIRCEP.112.979229>.
- Vomund, Anthony N., and Elaine M. Majerus. 2009. "ADAMTS13 Bound to Endothelial Cells Exhibits Enhanced Cleavage of von Willebrand Factor." *The Journal of Biological Chemistry* 284 (45): 30925–32. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.000927>.
- Vyas, Vishal, Hazel Blythe, Elizabeth G. Wood, Balraj Sandhar, Shah-Jalal Sarker, Damian Balmforth, Shirish G. Ambekar, et al. 2021. "Obesity and Diabetes Are Major Risk Factors for Epicardial Adipose Tissue Inflammation." *JCI Insight* 6 (16): e145495. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.145495>.
- Walklate, Jonathan, Cecilia Ferrantini, Chloe A. Johnson, Chiara Tesi, Corrado Poggesi, and Michael A. Geeves. 2021. "Alpha and Beta Myosin Isoforms and Human Atrial and Ventricular Contraction." *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS* 78 (23): 7309–37. <https://doi.org/10.1007/s00018-021-03971-y>.
- Wang, Hao, Jaqueline da Silva, Allan Alencar, Gisele Zapata-Sudo, Marina S. Lin, Xuming Sun, Sarfaraz Ahmad, Carlos M. Ferrario, and Leanne Groban. 2016. "Mast Cell Inhibition Attenuates Cardiac Remodeling and Diastolic Dysfunction in Middle-Aged, Ovariectomized Fischer344xBrown Norway Rats." *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 68 (1): 49–57. <https://doi.org/10.1097/FJC.0000000000000385>.
- Wang, Jiapeng, Kierra Ware, Alicia Bedolla, Emily Allgire, Flavia Correa Turcato, Maxwell Weed, Renu Sah, and Yu Luo. 2022. "Disruption of Sonic Hedgehog Signaling Accelerates Age-Related Neurogenesis Decline and Abolishes Stroke-Induced Neurogenesis and Leads to Increased Anxiety Behavior in Stroke Mice." *Translational Stroke Research* 13 (5): 830–44. <https://doi.org/10.1007/s12975-022-00994-w>.
- Wang, Mingxia, Shangling Zhu, Weixiang Peng, Qiuxia Li, Zhaoxia Li, Minqi Luo, Xiaoxue Feng, Zhuofeng Lin, and Jianlin Huang. 2014. "Sonic Hedgehog Signaling Drives Proliferation of Synoviocytes in Rheumatoid Arthritis: A Possible Novel Therapeutic Target." *Journal of Immunology Research* 2014: 401903. <https://doi.org/10.1155/2014/401903>.
- Wang, Minshu, Colin E. Murdoch, Alison C. Brewer, Aleksandar Ivetic, Paul Evans, Ajay M. Shah, and Min Zhang. 2021. "Endothelial NADPH Oxidase 4 Protects against Angiotensin II-induced Cardiac Fibrosis and Inflammation." *ESC Heart Failure* 8 (2): 1427–37. <https://doi.org/10.1002/ehf2.13228>.
- Wang, Qianqian, Daniel E. Asarnow, Ke Ding, Randall K. Mann, Jason Hatakeyama, Yunxiao Zhang, Yong Ma, Yifan Cheng, and Philip A. Beachy. 2021. "Dispatched Uses Na⁺ Flux to Power Release of Lipid-Modified Hedgehog." *Nature* 599 (7884): 320–24. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03996-0>.
- Wang, S. Q., L. S. Song, E. G. Lakatta, and H. Cheng. 2001. "Ca²⁺ Signalling between Single L-Type Ca²⁺ Channels and Ryanodine Receptors in Heart Cells." *Nature* 410 (6828): 592–96. <https://doi.org/10.1038/35069083>.
- Wang, Thomas J., Martin G. Larson, Daniel Levy, Emelia J. Benjamin, Eric P. Leip, Peter W. F. Wilson, and Ramachandran S. Vasan. 2004. "Impact of Obesity on Plasma Natriuretic Peptide Levels." *Circulation* 109 (5): 594–600. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000112582.16683.EA>.

- Wang, Tzung-Dau, Wen-Jone Chen, Sophia Seh-Yi Su, Ta-Chen Su, Ming-Fong Chen, Chiau-Suong Liao, and Yuan-Teh Lee. 2001. "Increased Levels of Tissue Plasminogen Activator Antigen and Factor VIII Activity in Nonvalvular Atrial Fibrillation: Relation to Predictors of Thromboembolism." *Journal of Cardiovascular Electrophysiology* 12 (8): 877–84. <https://doi.org/10.1046/j.1540-8167.2001.00877.x>.
- Wang, Yue, Shijie Jin, Yoshifumi Sonobe, Yi Cheng, Hiroshi Horiuchi, Bijay Parajuli, Jun Kawanokuchi, Tetsuya Mizuno, Hideyuki Takeuchi, and Akio Suzumura. 2014. "Interleukin-1 β Induces Blood–Brain Barrier Disruption by Downregulating Sonic Hedgehog in Astrocytes." *PLOS ONE* 9 (10): e110024. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0110024>.
- Washington Smoak, I., N. A. Byrd, R. Abu-Issa, M. M. Goddeeris, R. Anderson, J. Morris, K. Yamamura, J. Klingensmith, and E. N. Meyers. 2005. "Sonic Hedgehog Is Required for Cardiac Outflow Tract and Neural Crest Cell Development." *Developmental Biology* 283 (2): 357–72. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2005.04.029>.
- Watkins, D. Neil, David M. Berman, Scott G. Burkholder, Baolin Wang, Philip A. Beachy, and Stephen B. Baylin. 2003. "Hedgehog Signalling within Airway Epithelial Progenitors and in Small-Cell Lung Cancer." *Nature* 422 (6929): 313–17. <https://doi.org/10.1038/nature01493>.
- Wattanakit, Keattiyoot, Pamela L. Lutsey, Elizabeth J. Bell, Heather Gornik, Mary Cushman, Susan R. Heckbert, Wayne D. Rosamond, and Aaron R. Folsom. 2012. "Association between Cardiovascular Disease Risk Factors and Occurrence of Venous Thromboembolism. A Time-Dependent Analysis." *Thrombosis and Haemostasis* 108 (3): 508–15. <https://doi.org/10.1160/TH11-10-0726>.
- Wechsler-Reya, R. J., and M. P. Scott. 1999. "Control of Neuronal Precursor Proliferation in the Cerebellum by Sonic Hedgehog." *Neuron* 22 (1): 103–14. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(00\)80682-0](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(00)80682-0).
- Wei, S., L. T. Chow, I. O. Shum, L. Qin, and J. E. Sanderson. 1999. "Left and Right Ventricular Collagen Type I/III Ratios and Remodeling Post-Myocardial Infarction." *Journal of Cardiac Failure* 5 (2): 117–26. [https://doi.org/10.1016/s1071-9164\(99\)90034-9](https://doi.org/10.1016/s1071-9164(99)90034-9).
- Weis, William I., and W. James Nelson. 2006. "Re-Solving the Cadherin-Catenin-Actin Conundrum." *The Journal of Biological Chemistry* 281 (47): 35593–97. <https://doi.org/10.1074/jbc.R600027200>.
- Weisberg, Stuart P., Daniel McCann, Manisha Desai, Michael Rosenbaum, Rudolph L. Leibel, and Anthony W. Ferrante. 2003. "Obesity Is Associated with Macrophage Accumulation in Adipose Tissue." *Journal of Clinical Investigation* 112 (12): 1796–1808. <https://doi.org/10.1172/JCI200319246>.
- Wenzel, Philip. 2022. "Thromboinflammation in Cardiovascular Disease: Lessons Learned for the Management of Hypertension, Heart Failure, and Aortic Valve Stenosis." *European Heart Journal* 43 (44): 4611–13. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehac459>.
- Westermann, Dirk, Diana Lindner, Mario Kasner, Christine Zietsch, K. Savvatis, F. Escher, J. von Schlippenbach, et al. 2011. "Cardiac Inflammation Contributes to Changes in the Extracellular Matrix in Patients with Heart Failure and Normal Ejection Fraction." *Circulation. Heart Failure* 4 (1): 44–52. <https://doi.org/10.1161/CIRCHEARTFAILURE.109.931451>.
- Whitaker, Robert H. 2010. "Anatomy of the Heart." *Medicine* 38 (7): 333–35. <https://doi.org/10.1016/j.mpmed.2010.04.005>.
- White, Richard H. 2003. "The Epidemiology of Venous Thromboembolism." *Circulation* 107 (23 Suppl 1): I4–8. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000078468.11849.66>.
- Widyantoro, Bambang, Noriaki Emoto, Kazuhiko Nakayama, Dyah W. Anggrahini, Suko Adiarto, Naoko Iwasa, Keiko Yagi, et al. 2010. "Endothelial Cell-Derived Endothelin-1 Promotes Cardiac Fibrosis in Diabetic Hearts Through Stimulation of Endothelial-to-Mesenchymal Transition." *Circulation* 121 (22): 2407–18. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.110.938217>.
- Wierbowski, Bradley M., Kostadin Petrov, Laura Aravena, Garrick Gu, Yangqing Xu, and Adrian Salic. 2020. "Hedgehog Pathway Activation Requires Coreceptor-Catalyzed, Lipid-Dependent Relay of the Sonic Hedgehog Ligand." *Developmental Cell* 55 (4): 450–467.e8. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2020.09.017>.

- Wilkerson, Wade R., and David C. Sane. 2002. "Aging and Thrombosis." *Seminars in Thrombosis and Hemostasis* 28 (6): 555–68. <https://doi.org/10.1055/s-2002-36700>.
- Winegrad, S., C. Wisnewsky, and K. Schwartz. 1990. "Effect of Thyroid Hormone on the Accumulation of mRNA for Skeletal and Cardiac Alpha-Actin in Hearts from Normal and Hypophysectomized Rats." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 87 (7): 2456–60. <https://doi.org/10.1073/pnas.87.7.2456>.
- Winter, Max-Paul, Marcus E. Kleber, Lorenz Koller, Patrick Sulzgruber, Hubert Scharnagl, Graciela Delgado, Georg Goliash, Winfried März, and Alexander Niessner. 2017. "Prognostic Significance of tPA/PAI-1 Complex in Patients with Heart Failure and Preserved Ejection Fraction." *Thrombosis and Haemostasis* 117 (3): 471–78. <https://doi.org/10.1160/TH16-08-0600>.
- Witsch, Thilo, Kimberly Martinod, Nicoletta Sorvillo, Irina Portier, Simon F. De Meyer, and Denisa D. Wagner. 2018. "Recombinant Human ADAMTS13 Treatment Improves Myocardial Remodeling and Functionality After Pressure Overload Injury in Mice." *Journal of the American Heart Association: Cardiovascular and Cerebrovascular Disease* 7 (3): e007004. <https://doi.org/10.1161/JAHA.117.007004>.
- Woerden, Gijs van, Dirk J. van Veldhuisen, Olivier C. Manintveld, Vanessa P.M. van Empel, Tineke P. Willems, Rudolf A. de Boer, Michiel Rienstra, B. Daan Westenbrink, and Thomas M. Gorter. 2022. "Epicardial Adipose Tissue and Outcome in Heart Failure With Mid-Range and Preserved Ejection Fraction." *Circulation: Heart Failure* 15 (3): e009238. <https://doi.org/10.1161/CIRCHEARTFAILURE.121.009238>.
- Woldbaek, Per Reidar, Jørn Bodvar Sande, Taevje Andreas Strømme, Per Kristian Lunde, Srdjan Djurovic, Torstein Lyberg, Geir Christensen, and Theis Tønnessen. 2005. "Daily Administration of Interleukin-18 Causes Myocardial Dysfunction in Healthy Mice." *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology* 289 (2): H708-714. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.01179.2004>.
- Wolf, P. A., T. R. Dawber, H. E. Thomas, and W. B. Kannel. 1978. "Epidemiologic Assessment of Chronic Atrial Fibrillation and Risk of Stroke: The Framingham Study." *Neurology* 28 (10): 973–77. <https://doi.org/10.1212/wnl.28.10.973>.
- Wollert, Kai C, Tibor Kempf, and Lars Wallentin. 2017. "Growth Differentiation Factor 15 as a Biomarker in Cardiovascular Disease." *Clinical Chemistry* 63 (1): 140–51. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2016.255174>.
- Wong, Siu Ling, Melanie Demers, Kimberly Martinod, Maureen Gallant, Yanming Wang, Allison B. Goldfine, C. Ronald Kahn, and Denisa D. Wagner. 2015. "Diabetes Primes Neutrophils to Undergo NETosis, Which Impairs Wound Healing." *Nature Medicine* 21 (7): 815–19. <https://doi.org/10.1038/nm.3887>.
- Wouw, Jens van de, Michelle Broekhuizen, Oana Sorop, Jaap A. Joles, Marianne C. Verhaar, Dirk J. Duncker, A. H. Jan Danser, and Daphne Merkus. 2019. "Chronic Kidney Disease as a Risk Factor for Heart Failure With Preserved Ejection Fraction: A Focus on Microcirculatory Factors and Therapeutic Targets." *Frontiers in Physiology* 10 (September): 1108. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.01108>.
- Wouw, Jens van de, Oana Sorop, Ruben W. A. van Drie, Richard W. B. van Duin, Isabel T. N. Nguyen, Jaap A. Joles, Marianne C. Verhaar, Daphne Merkus, and Dirk J. Duncker. 2020. "Perturbations in Myocardial Perfusion and Oxygen Balance in Swine with Multiple Risk Factors: A Novel Model of Ischemia and No Obstructive Coronary Artery Disease." *Basic Research in Cardiology* 115 (2): 21. <https://doi.org/10.1007/s00395-020-0778-2>.
- Wu, Kenneth K., and Jun-Yang Liou. 2005. "Cellular and Molecular Biology of Prostacyclin Synthase." *Biochemical and Biophysical Research Communications, Celebrating 50 Years of Oxygenases*, 338 (1): 45–52. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2005.08.021>.
- Wu, Xiaoqian, Huan Liu, Alan Brooks, Suowen Xu, Jinque Luo, Rebbeca Steiner, Deanne M. Mickelsen, et al. 2022. "SIRT6 Mitigates Heart Failure With Preserved Ejection Fraction in Diabetes." *Circulation Research* 131 (11): 926–43. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.121.318988>.

- Xiao, Qing, Ning Hou, Yan-Ping Wang, Li-Shan He, Yan-Hua He, Gui-Ping Zhang, Quan Yi, Shi-Ming Liu, Min-Sheng Chen, and Jian-Dong Luo. 2012. "Impaired Sonic Hedgehog Pathway Contributes to Cardiac Dysfunction in Type 1 Diabetic Mice with Myocardial Infarction." *Cardiovascular Research* 95 (4): 507–16. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvs216>.
- Xie, Guanhua, Marzena Swiderska-Syn, Mark L. Jewell, Mariana Verdelho Machado, Gregory A. Michelotti, Richard T. Premont, and Anna Mae Diehl. 2017. "Loss of Pericyte Smoothed Activity in Mice with Genetic Deficiency of Leptin." *BMC Cell Biology* 18 (1): 20. <https://doi.org/10.1186/s12860-017-0135-y>.
- Xie, Linglin, Andrew D. Hoffmann, Ozanna Burnicka-Turek, Joshua M. Friedland-Little, Ke Zhang, and Ivan P. Moskowitz. 2012. "Tbx5-Hedgehog Molecular Networks Are Essential in the Second Heart Field for Atrial Septation." *Developmental Cell* 23 (2): 280–91. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2012.06.006>.
- Yamamoto, Kazuhiro, Hideki Origasa, Masatsugu Hori, and J-DHF Investigators. 2013. "Effects of Carvedilol on Heart Failure with Preserved Ejection Fraction: The Japanese Diastolic Heart Failure Study (J-DHF)." *European Journal of Heart Failure* 15 (1): 110–18. <https://doi.org/10.1093/eurjhf/hfs141>.
- Yamamoto, Koji, Kyosuke Takeshita, Tetsuhito Kojima, Junki Takamatsu, and Hidehiko Saito. 2005. "Aging and Plasminogen Activator Inhibitor-1 (PAI-1) Regulation: Implication in the Pathogenesis of Thrombotic Disorders in the Elderly." *Cardiovascular Research* 66 (2): 276–85. <https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2004.11.013>.
- Yamashita, Takeshi, Akiko Sekiguchi, Yu-ki Iwasaki, Kouichi Sagara, Seiji Hatano, Hiroyuki Inuma, Tadanori Aizawa, and Long-Tai Fu. 2003. "Thrombomodulin and Tissue Factor Pathway Inhibitor in Endocardium of Rapidly Paced Rat Atria." *Circulation* 108 (20): 2450–52. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000102969.09658.F2>.
- Yang, Jeong Hoon, Masaru Obokata, Yogesh N. V. Reddy, Margaret M. Redfield, Amir Lerman, and Barry A. Borlaug. 2020. "Endothelium-Dependent and Independent Coronary Microvascular Dysfunction in Patients with Heart Failure with Preserved Ejection Fraction." *European Journal of Heart Failure* 22 (3): 432–41. <https://doi.org/10.1002/ejhf.1671>.
- Yao, Qinyu, Jia Liu, Lei Xiao, and Nanping Wang. 2019. "Sonic Hedgehog Signaling Instigates High-Fat Diet-Induced Insulin Resistance by Targeting PPAR γ Stability." *Journal of Biological Chemistry* 294 (9): 3284–93. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA118.004411>.
- Yau, Jonathan W., Hwee Teoh, and Subodh Verma. 2015. "Endothelial Cell Control of Thrombosis." *BMC Cardiovascular Disorders* 15 (October): 130. <https://doi.org/10.1186/s12872-015-0124-z>.
- Yeh, Yung-Hsin, Reza Wakili, Xiao-Yan Qi, Denis Chartier, Peter Boknik, Stefan Käb, Ursula Ravens, Pierre Coutu, Dobromir Dobrev, and Stanley Nattel. 2008. "Calcium-Handling Abnormalities Underlying Atrial Arrhythmogenesis and Contractile Dysfunction in Dogs with Congestive Heart Failure." *Circulation. Arrhythmia and Electrophysiology* 1 (2): 93–102. <https://doi.org/10.1161/CIRCEP.107.754788>.
- Yilmaz, R., H. Akoglu, B. Altun, T. Yildirim, M. Arici, and Y. Erdem. 2012. "Dietary Salt Intake Is Related to Inflammation and Albuminuria in Primary Hypertensive Patients." *European Journal of Clinical Nutrition* 66 (11): 1214–18. <https://doi.org/10.1038/ejcn.2012.110>.
- Yin, Jiani C., Mathew J. Platt, Xixi Tian, Xue Wu, Peter H. Backx, Jeremy A. Simpson, Toshiyuki Araki, and Benjamin G. Neel. 2017. "Cellular Interplay via Cytokine Hierarchy Causes Pathological Cardiac Hypertrophy in RAF1-Mutant Noonan Syndrome." *Nature Communications* 8 (May): 15518. <https://doi.org/10.1038/ncomms15518>.
- Yngen, M., C. G. Ostenson, N. Li, P. Hjerdahl, and N. H. Wallén. 2001. "Acute Hyperglycemia Increases Soluble P-Selectin in Male Patients with Mild Diabetes Mellitus." *Blood Coagulation & Fibrinolysis: An International Journal in Haemostasis and Thrombosis* 12 (2): 109–16. <https://doi.org/10.1097/00001721-200103000-00004>.

- You, John J., Daniel E. Singer, Patricia A. Howard, Deirdre A. Lane, Mark H. Eckman, Margaret C. Fang, Elaine M. Hylek, et al. 2012. "Antithrombotic Therapy for Atrial Fibrillation: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th Ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines." *Chest* 141 (2, Supplement): e531S-e575S. <https://doi.org/10.1378/chest.11-2304>.
- Yu, Qianli, Randy Vazquez, Elham Vali Khojeini, Chirag Patel, Raj Venkataramani, and Douglas F. Larson. 2009. "IL-18 Induction of Osteopontin Mediates Cardiac Fibrosis and Diastolic Dysfunction in Mice." *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology* 297 (1): H76-85. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.01285.2008>.
- Yu, XinWen, Richard H. Kennedy, and Shi J. Liu. 2003. "JAK2/STAT3, Not ERK1/2, Mediates Interleukin-6-Induced Activation of Inducible Nitric-Oxide Synthase and Decrease in Contractility of Adult Ventricular Myocytes." *The Journal of Biological Chemistry* 278 (18): 16304-9. <https://doi.org/10.1074/jbc.M212321200>.
- Yüksel, Serkan, Esra Pancar Yüksel, and Murat Meriç. 2021. "Abnormal Nailfold Videocapillaroscopic Findings in Heart Failure Patients with Preserved Ejection Fraction." *Clinical Hemorheology and Microcirculation* 77 (1): 115-21. <https://doi.org/10.3233/CH-200968>.
- Yun, Seong-Hoon, Eun-Hye Sim, Ri-Young Goh, Joo-In Park, and Jin-Yeong Han. 2016. "Platelet Activation: The Mechanisms and Potential Biomarkers." *BioMed Research International* 2016: 9060143. <https://doi.org/10.1155/2016/9060143>.
- Yusuf, Salim, Marc A. Pfeffer, Karl Swedberg, Christopher B. Granger, Peter Held, John J. V. McMurray, Eric L. Michelson, Bertil Olofsson, Jan Ostergren, and CHARM Investigators and Committees. 2003. "Effects of Candesartan in Patients with Chronic Heart Failure and Preserved Left-Ventricular Ejection Fraction: The CHARM-Preserved Trial." *Lancet (London, England)* 362 (9386): 777-81. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)14285-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(03)14285-7).
- Zahavi, J., N. A. G. Jones, J. Leyton, M. Dubiel, and V. V. Kakkar. 1980. "Enhanced in Vivo Platelet 'Release Reaction' in Old Healthy Individuals." *Thrombosis Research* 17 (3): 329-36. [https://doi.org/10.1016/0049-3848\(80\)90067-5](https://doi.org/10.1016/0049-3848(80)90067-5).
- Zakeri, Rosita, Barry A. Borlaug, Steven E. McNulty, Selma F. Mohammed, Gregory D. Lewis, Marc J. Semigran, Anita Deswal, et al. 2014. "Impact of Atrial Fibrillation on Exercise Capacity in Heart Failure with Preserved Ejection Fraction: A RELAX Trial Ancillary Study." *Circulation. Heart Failure* 7 (1): 123-30. <https://doi.org/10.1161/CIRCHEARTFAILURE.113.000568>.
- Zeng, Heng, and Jian-Xiong Chen. 2019. "SIRTUIN 3, ENDOTHELIAL METABOLIC REPROGRAMMING AND HEART FAILURE WITH PRESERVED EJECTION FRACTION." *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 74 (4): 315-23. <https://doi.org/10.1097/FJC.0000000000000719>.
- Zeng, Heng, Xiaochen He, and Jian-Xiong Chen. 2020. "A Sex-Specific Role of Endothelial Sirtuin 3 on Blood Pressure and Diastolic Dysfunction in Female Mice." *International Journal of Molecular Sciences* 21 (24): 9744. <https://doi.org/10.3390/ijms21249744>.
- Zhang, Chaohui, Yuxin Li, Jiaheng Cao, Beibei Yu, Kaiyue Zhang, Ke Li, Xinhui Xu, et al. 2021. "Hedgehog Signalling Controls Sinoatrial Node Development and Atrioventricular Cushion Formation." *Open Biology* 11 (6): 210020. <https://doi.org/10.1098/rsob.210020>.
- Zhang, F., X.-C. Yang, X.-W. Jia, X.-H. Tang, Z. Wang, and Z.-Q. Wang. 2017. "Von Willebrand Factor and ADAMTS13 Plasma in Older Patients with High CHA2DS2-VASc Score with and without Atrial Fibrillation." *European Review for Medical and Pharmacological Sciences* 21 (21): 4907-12.
- Zhang, Jiayu, Liang Wu, Jiawei Chen, Sisi Lin, Daqiu Cai, Chengwei Chen, and Zhenguo Chen. 2018. "Downregulation of MicroRNA 29a/b Exacerbated Diabetic Retinopathy by Impairing the Function of Müller Cells via Forkhead Box Protein O4." *Diabetes and Vascular Disease Research* 15 (3): 214-22. <https://doi.org/10.1177/1479164118756239>.
- Zhang, Lili, Jared J. Liebelt, Nidhi Madan, Jian Shan, and Cynthia C. Taub. 2017. "Comparison of Predictors of Heart Failure With Preserved Versus Reduced Ejection Fraction in a Multiracial Cohort of Preclinical Left Ventricular Diastolic Dysfunction." *The American Journal of Cardiology* 119 (11): 1815-20. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2017.03.005>.

- Zhang, Liwei, Xuejie Fu, Li Ni, Cunchang Liu, Yixin Zheng, Hongji You, Meng Li, et al. 2022. "Hedgehog Signaling Controls Bone Homeostasis by Regulating Osteogenic/Adipogenic Fate of Skeletal Stem/Progenitor Cells in Mice." *Journal of Bone and Mineral Research* 37 (3): 559–76. <https://doi.org/10.1002/jbmr.4485>.
- Zhang, Min, Alessia Perino, Alessandra Ghigo, Emilio Hirsch, and Ajay M. Shah. 2013. "NADPH Oxidases in Heart Failure: Poachers or Gamekeepers?" *Antioxidants & Redox Signaling* 18 (9): 1024–41. <https://doi.org/10.1089/ars.2012.4550>.
- Zhang, Ming, Xiao-Yan Lv, Jing Li, Zhi-Gang Xu, and Li Chen. 2008. "The Characterization of High-Fat Diet and Multiple Low-Dose Streptozotocin Induced Type 2 Diabetes Rat Model." *Experimental Diabetes Research* 2008: 704045. <https://doi.org/10.1155/2008/704045>.
- Zhang, Ning, Qunchao Ma, Yayu You, Xiangyang Xia, Cuiping Xie, Yuxue Huang, Zhuo Wang, Feiming Ye, Zhaosheng Yu, and Xiaojie Xie. 2022. "CXCR4-Dependent Macrophage-to-Fibroblast Signaling Contributes to Cardiac Diastolic Dysfunction in Heart Failure with Preserved Ejection Fraction." *International Journal of Biological Sciences* 18 (3): 1271–87. <https://doi.org/10.7150/ijbs.65802>.
- Zhang, R.-Y., Z.-Y. Qiao, H.-J. Liu, and J.-W. Ma. 2018. "Sonic Hedgehog Signaling Regulates Hypoxia/Reoxygenation-Induced H9C2 Myocardial Cell Apoptosis." *Experimental and Therapeutic Medicine* 16 (5): 4193–4200. <https://doi.org/10.3892/etm.2018.6678>.
- Zhang, X. M., M. Ramalho-Santos, and A. P. McMahon. 2001. "Smoothed Mutants Reveal Redundant Roles for Shh and Ihh Signaling Including Regulation of L/R Asymmetry by the Mouse Node." *Cell* 105 (6): 781–92. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(01\)00385-3](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(01)00385-3)
- Zhang, Xin-Lin, Ting-Yu Wang, Zheng Chen, Hong-Wei Wang, Yong Yin, Lian Wang, Yong Wang, Biao Xu, and Wei Xu. 2022. "HMGB1-Promoted Neutrophil Extracellular Traps Contribute to Cardiac Diastolic Dysfunction in Mice." *Journal of the American Heart Association* 11 (4): e023800. <https://doi.org/10.1161/JAHA.121.023800>.
- Zhang, Xuguang, Susan C. McGeoch, Alexandra M. Johnstone, Grietje Holtrop, Alan A. Sneddon, Sandra M. MacRury, Ian L. Megson, et al. 2014. "Platelet-Derived Microparticle Count and Surface Molecule Expression Differ between Subjects with and without Type 2 Diabetes, Independently of Obesity Status." *Journal of Thrombosis and Thrombolysis* 37 (4): 455–63. <https://doi.org/10.1007/s11239-013-1000-2>.
- Zhang, Yan, Zhengru Zhu, Tingting Wang, Yuan Dong, Yanhong Fan, and Dongdong Sun. 2021. "TGF- β 1-Containing Exosomes from Cardiac Microvascular Endothelial Cells Mediate Cardiac Fibroblast Activation under High Glucose Conditions." *Biochemistry and Cell Biology = Biochimie Et Biologie Cellulaire* 99 (6): 693–99. <https://doi.org/10.1139/bcb-2020-0624>.
- Zhang, Yunxiao, and Philip A. Beachy. 2023. "Cellular and Molecular Mechanisms of Hedgehog Signalling." *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 24 (9): 668–87. <https://doi.org/10.1038/s41580-023-00591-1>.
- Zhang, Yunxiao, Wan-Jin Lu, David P. Bulkley, Jiahao Liang, Arthur Ralko, Shuo Han, Kelsey J. Roberts, et al. 2020. "Hedgehog Pathway Activation through Nanobody-Mediated Conformational Blockade of the Patched Sterol Conduit." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 117 (46): 28838–46. <https://doi.org/10.1073/pnas.2011560117>.
- Zhao, Chen, Alan Chen, Catriona H. Jamieson, Mark Fereshteh, Annelie Abrahamsson, Jordan Blum, Hyog Young Kwon, et al. 2009. "Hedgehog Signalling Is Essential for Maintenance of Cancer Stem Cells in Myeloid Leukaemia." *Nature* 458 (7239): 776–79. <https://doi.org/10.1038/nature07737>.
- Zhao, Lin, Guangming Cheng, Runming Jin, Muhammad R. Afzal, Anweshan Samanta, Yu-Ting Xuan, Magdy Girgis, et al. 2016. "Deletion of Interleukin-6 Attenuates Pressure Overload-Induced Left Ventricular Hypertrophy and Dysfunction." *Circulation Research* 118 (12): 1918–29. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.308688>.

- Zhao, Xin-Ping, Shiao-Ying Chang, Min-Chun Liao, Chao-Sheng Lo, Isabelle Chenier, Hongyu Luo, Jean-Louis Chiasson, Julie R. Ingelfinger, John S. D. Chan, and Shao-Ling Zhang. 2018. "Hedgehog Interacting Protein Promotes Fibrosis and Apoptosis in Glomerular Endothelial Cells in Murine Diabetes." *Scientific Reports* 8 (1): 5958. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-24220-6>.
- Zhao, Xin-Ping, Min-Chun Liao, Shiao-Ying Chang, Shaaban Abdo, Yessoufou Aliou, Isabelle Chenier, Julie R. Ingelfinger, and Shao-Ling Zhang. 2014. "Maternal Diabetes Modulates Kidney Formation in Murine Progeny: The Role of Hedgehog Interacting Protein (HHIP)." *Diabetologia* 57 (9): 1986–96. <https://doi.org/10.1007/s00125-014-3297-6>.
- Zhao, Y. Y., D. R. Sawyer, R. R. Baliga, D. J. Opel, X. Han, M. A. Marchionni, and R. A. Kelly. 1998. "Neuregulins Promote Survival and Growth of Cardiac Myocytes. Persistence of ErbB2 and ErbB4 Expression in Neonatal and Adult Ventricular Myocytes." *The Journal of Biological Chemistry* 273 (17): 10261–69. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.17.10261>.
- Zhou, Dan, Mengqi Yan, Qi Cheng, Xiaoxuan Feng, Songtao Tang, and Yingqing Feng. 2022. "Prevalence and Prognosis of Left Ventricular Diastolic Dysfunction in Community Hypertension Patients." *BMC Cardiovascular Disorders* 22 (1): 265. <https://doi.org/10.1186/s12872-022-02709-3>.
- Zhou, Yuying, Yunlong Zhu, and Jianping Zeng. 2021. "Research Update on the Pathophysiological Mechanisms of Heart Failure with Preserved Ejection Fraction." *Current Molecular Medicine*, November. <https://doi.org/10.2174/1566524021666211129111202>.
- Ziegler-Heitbrock, Loems. 2007. "The CD14+ CD16+ Blood Monocytes: Their Role in Infection and Inflammation." *Journal of Leukocyte Biology* 81 (3): 584–92. <https://doi.org/10.1189/jlb.0806510>.
- Zile, Michael R., Catalin F. Baicu, John S. Ikonomidis, Robert E. Stroud, Paul J. Nietert, Amy D. Bradshaw, Rebecca Slater, et al. 2015. "Myocardial Stiffness in Patients With Heart Failure and a Preserved Ejection Fraction." *Circulation* 131 (14): 1247–59. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.114.013215>.
- Zile, Michael R., and Dirk L. Brutsaert. 2002. "New Concepts in Diastolic Dysfunction and Diastolic Heart Failure: Part I." *Circulation* 105 (11): 1387–93. <https://doi.org/10.1161/hc1102.105289>.
- Zile, Michael R., John S. Gottdiener, Scott J. Hetzel, John J. McMurray, Michel Komajda, Robert McKelvie, Catalin F. Baicu, Barry M. Massie, Peter E. Carson, and I-PRESERVE Investigators. 2011. "Prevalence and Significance of Alterations in Cardiac Structure and Function in Patients with Heart Failure and a Preserved Ejection Fraction." *Circulation* 124 (23): 2491–2501. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.110.011031>.

VIII. Publications, présentations orales et poster

1) Publications

P Rouault, S Guimbal, L Cornuault, C Bourguignon, N Foussard, P Alzieu, F Choveau, D Benoist, C Chapouly, AP Gadeau, T Couffinhal, and MA Renault. “Thrombosis in the coronary microvasculature impairs cardiac relaxation and induces diastolic dysfunction”. En cours de soumission.

Pierre Mora, Margaux Laisné, Célia Bourguignon, **Paul Rouault**, Alain-Pierre Gadeau, Marie-Ange Renault, Sam Horng, Thierry Couffinhal, Candice Chapouly. « Juxtacrine DLL4-NOTCH1 signaling between astrocytes drives neuroinflammation via the IL-6-STAT3 axis”. En cours de soumission

Cornuault, Lauriane, François-Xavier Hérion, Célia Bourguignon, **Paul Rouault**, Ninon Foussard, Philippe Alzieu, Candice Chapouly, Alain-Pierre Gadeau, Thierry Couffinhal, and Marie-Ange Renault. 2023. “Partial Mural Cell Ablation Disrupts Coronary Vasculature Integrity and Induces Systolic Dysfunction.” *Journal of the American Heart Association* 12 (13): e029279.
<https://doi.org/10.1161/JAHA.122.029279>.

Foussard, Ninon, **Paul Rouault**, Lauriane Cornuault, Annabel Reynaud, Emmanuel S. Buys, Candice Chapouly, Alain-Pierre Gadeau, Thierry Couffinhal, Kamel Mohammedi, and Marie-Ange Renault. 2023. “Praliciguat Promotes Ischemic Leg Reperfusion in Leptin Receptor-Deficient Mice.” *Circulation Research* 132 (1): 34–48. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.122.322033>.

Cornuault, Lauriane, **Paul Rouault**, Cécile Duplâa, Thierry Couffinhal, and Marie-Ange Renault. 2022. “Endothelial Dysfunction in Heart Failure With Preserved Ejection Fraction: What Are the Experimental Proofs?” *Frontiers in Physiology* 13: 906272.
<https://doi.org/10.3389/fphys.2022.906272>.

Guimbal, Sarah, Lauriane Cornuault, **Paul Rouault**, Pierre-Louis Hollier, Candice Chapouly, Marie-Lise Bats, Julien Imbault, Alain-Pierre Gadeau, Thierry Couffinhal, and Marie-Ange Renault. 2021. “Mast Cells Are the Trigger of Small Vessel Disease and Diastolic Dysfunction in Diabetic Obese Mice.” *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 41 (4): e193–207.
<https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.121.315900>.

2) Présentations orales/posters

P. Rouault, L. Cornuault, N. Foussard, C. Bourguignon, V. Grouthier, F. Choveau, D. Benoist, A.P. Gadeau, T. Couffinhal, M.A. Renault. Thrombosis in the coronary microvasculature may be responsible for impaired cardiac relaxation and diastolic dysfunction. ESC congress 2023. Poster modéré.

P. Rouault, L. Cornuault, N. Foussard, C. Bourguignon, V. Grouthier, F. Choveau, D. Benoist, A.P. Gadeau, T. Couffinhal, M.A. Renault. Thrombosis in the coronary microvasculature may be responsible for impaired cardiac relaxation and diastolic dysfunction. AHA congress Basic Science 2023. Competition prix Poster. **Paul Dudley White International Scholar Award.**

P. Rouault, L. Cornuault, N. Foussard, C. Bourguignon, V. Grouthier, F. Choveau, D. Benoist, A.P. Gadeau, T. Couffinhal, M.A. Renault. Thrombosis in the coronary microvasculature may be responsible for impaired cardiac relaxation and diastolic dysfunction. Printemps de la Cardiologie, 2023. Communication orale. **Young investigator Award.**

P. Rouault; G. Sarah; L. Cornuault; P. Mora; C. Chapouly; AP. Gadeau; T. Couffinhal; MA. Renault. Desert Hedgehog-related endothelial dysfunction is sufficient to induce diastolic dysfunction. Journée du département Sciences Biologiques et Médicales, 2022. Présentation poster.

P. Rouault; G. Sarah; L. Cornuault; P. Mora; C. Chapouly; AP. Gadeau; T. Couffinhal; MA. Renault. Desert Hedgehog-related endothelial dysfunction is sufficient to induce diastolic dysfunction. Printemps de la Cardiologie, 2022, poster commenté.

P. Rouault; G. Sarah; L. Cornuault; P. Mora; C. Chapouly; AP. Gadeau; T. Couffinhal; MA. Renault. Desert Hedgehog-related endothelial dysfunction is sufficient to induce diastolic dysfunction. Congrès de la Nouvelle Société Française d'Athérosclérose, 2022, congrès, présentation poster.

P. Rouault; G. Sarah; L. Cornuault; P. Mora; C. Chapouly; AP. Gadeau; T. Couffinhal; MA. Renault. Desert Hedgehog-related endothelial dysfunction is sufficient to induce diastolic dysfunction. Printemps de la Cardiologie, 2021, congrès en Ligne, présentation poster.

P. Rouault; G. Sarah; L. Cornuault; P. Mora; C. Chapouly; AP. Gadeau; T. Couffinhal; MA. Renault. Desert Hedgehog promotes endothelium integrity through ADAM17 degradation. Printemps de la Cardiologie, 2021, congrès en Ligne, présentation poster.

P. Rouault; G. Sarah; L. Cornuault; P. Mora; C. Chapouly; AP. Gadeau; T. Couffinhal; MA. Renault. Desert Hedgehog-related endothelial dysfunction is sufficient to induce diastolic dysfunction. Congrès de la Nouvelle Société Française d'Athérosclérose, 2021, congrès en Ligne, Présentation poster et communication orale. **Prix poster**

P. Rouault; G. Sarah; L. Cornuault; P. Mora; C. Chapouly; AP. Gadeau; T. Couffinhal; MA. Renault. Desert Hedgehog promotes endothelium integrity through ADAM17 degradation. Congrès de la Nouvelle Société Française d'Athérosclérose, 2021, congrès en Ligne, Présentation poster.

P. Rouault; G. Sarah; L. Cornuault; P. Mora; C. Chapouly; AP. Gadeau; T. Couffinhal; MA. Renault. Desert Hedgehog-related endothelial dysfunction is sufficient to induce diastolic dysfunction. Journée du département Sciences Biologiques et Médicales, 2021. Présentation poster.

Titre : Rôle de la maladie des petits vaisseaux dans la physiopathologie de l'insuffisance cardiaque

L'insuffisance cardiaque (IC) est un problème de santé publique majeur touchant environ 1 à 2 % de la population adulte et jusqu'à 10 % des individus âgés de plus de 75 ans. Au sein de l'IC, la prévalence de l'IC à fraction d'éjection préservée (ICFEP) ne cesse d'augmenter et représente plus de la moitié des cas. Ce type d'IC est hétérogène dans sa présentation et sa physiopathologie est encore incomprise. Cette pathologie est associée avec de nombreux facteurs de risques cardiovasculaires, dont le diabète et l'obésité. Actuellement, il n'existe pas de traitement de l'ICFEP en dehors des inhibiteurs du Sodium Glucose Transporter 2. À partir d'observations cliniques, la dysfonction endothéliale microvasculaire coronaire a été suggérée comme pouvant contribuer à la survenue de la dysfonction diastolique chez ces patients. Cependant, l'implication de cette dysfonction endothéliale dans la physiopathologie de l'ICFEP n'a pas encore été démontrée et jusqu'à présent les essais cliniques ciblant la voie NO/sGC/cGMP ont échoué. Il est donc nécessaire d'identifier d'autres mécanismes de la dysfonction endothéliale qui pourraient participer à la physiopathologie de l'ICFEP.

Dans ce contexte, l'objectif de cette thèse consiste à déterminer si la dysfonction endothéliale cardiaque participe à la physiopathologie de l'ICFEP. Aussi, considérant l'hétérogénéité de la maladie, nous avons réalisé cette étude dans un phénotype d'ICFEP particulier, les patients diabétiques et obèses. Plus précisément, nous nous sommes intéressés 1) à identifier de nouveaux acteurs moléculaires de la dysfonction endothéliale, 2) à tester si ceux-ci peuvent induire une diastolique, 3) à identifier les mécanismes par lesquels ces acteurs induisent une dysfonction diastolique et 4) à tester si les cibler pourrait avoir un intérêt thérapeutique pour la prise en charge des patients atteints d'ICFEP.

Pour étudier le rôle de la dysfonction endothéliale sur la survenue de la dysfonction diastolique dans un contexte de diabète de type 2, nous avons utilisé des souris déficientes pour le récepteur à la leptine ($Lepr^{db/db}$). Nous avons démontré dans ce modèle physiopathologique que la dysfonction endothéliale cardiaque était liée à une altération de la voie de signalisation Hedgehog (Hh) endothéliale par l'intermédiaire d'une augmentation de l'expression d'un récepteur leurre pour Desert Hedgehog (DHH) : HHIPL1. À l'aide de différents modèles murins transgéniques déplétés spécifiquement pour les acteurs de cette voie de signalisation (HHIPL1, Smoothed et DHH) dans les cellules endothéliales et les cardiomyocytes, nous avons identifié qu'un défaut de la voie de signalisation endothéliale médiée par DHH était capable de provoquer une dysfonction diastolique. Nous avons ensuite identifié qu'un défaut de cette voie de signalisation induisait un phénotype prothrombotique des cellules endothéliales. Ce phénotype était responsable d'un défaut de perfusion des capillaires myocardiques et d'une hypoxie locale altérant le phénotype des cardiomyocytes. À l'aide de traitements antiagrégants préventifs et curatifs, nous avons mis en évidence que la thrombose coronaire participait au développement de la dysfonction diastolique y compris chez les souris $Lepr^{db/db}$.

L'ensemble de ces résultats démontre, d'une part, que la dysfonction endothéliale, et plus particulièrement l'acquisition d'un phénotype prothrombotique par les cellules endothéliales, pourrait participer à la physiopathologie de l'ICFEP notamment chez les patients diabétiques et obèses. D'autre part, ce travail de thèse identifie la thrombose comme cible thérapeutique potentielle pour les patients diabétiques et obèses atteints d'ICFEP.

Mots clés : Insuffisance cardiaque, dysfonction endothéliale, signalisation Hedgehog

Title: Role of small vessel disease in the pathophysiology of heart failure

Heart failure (HF) is a major public health problem affecting around 1 to 2% of the adult population and up to 10% of individuals aged over 75. Within heart failure, the prevalence of heart failure with preserved ejection fraction (HFpEF) is rising and accounts for more than half of all cases. This type of heart failure is heterogeneous in its presentation and its pathophysiology is still poorly understood. It is associated with several cardiovascular risk factors, including diabetes and obesity. There is currently no treatment for HFpEF other than sodium glucose transporter 2 inhibitors. Based on clinical observations, it has been suggested that coronary microvascular endothelial dysfunction may contribute to the development of diastolic dysfunction in these patients. However, the involvement of this endothelial dysfunction in the pathophysiology of HFpEF has not yet been demonstrated, and to date clinical trials targeting the NO/sGC/cGMP pathway have failed. It is therefore necessary to identify other mechanisms of endothelial dysfunction that could be involved in the pathophysiology of HFpEF.

In this context, the aim of this thesis is to determine whether cardiac endothelial dysfunction is involved in the pathophysiology of HFpEF. In view of the heterogeneity of the disease, we carried out this study in a particular phenogroup of HFpEF, diabetic and obese patients. More specifically, we were interested in 1) identifying new molecular players in endothelial dysfunction, 2) testing whether these players can induce diastolic function, 3) identifying the mechanisms by which these players induce diastolic dysfunction and 4) testing whether targeting them could be of therapeutic interest in the management of patients with HFpEF.

To study the role of endothelial dysfunction in the development of diastolic dysfunction in type 2 diabetes, we used mice deficient for the leptin receptor ($Lepr^{db/db}$). In this pathophysiological model, we demonstrated that cardiac endothelial dysfunction was linked to an alteration in the endothelial Hedgehog (Hh) signalling pathway via an increase in the expression of a decoy receptor for Desert Hedgehog (DHH): HHIPL1. Using different transgenic mouse models specifically depleted for the players in this signalling pathway (HHIPL1, Smoothed and DHH) in endothelial cells and cardiomyocytes, we identified that a defect in the DHH-mediated endothelial signalling pathway could cause diastolic dysfunction. We then identified that a defect in this signalling pathway induced a prothrombotic phenotype in endothelial cells. This phenotype was responsible for a perfusion defect in myocardial capillaries and local hypoxia that altered the phenotype of cardiomyocytes. Using preventive and curative antiaggregant treatments, we demonstrated that coronary thrombosis participated in the development of diastolic dysfunction, including in $Lepr^{db/db}$ mice.

Taken together, these results demonstrate that endothelial dysfunction, and more specifically the acquisition of a prothrombotic phenotype by endothelial cells, could play a role in the pathophysiology of HFpEF, particularly in diabetic and obese patients. This thesis also identifies thrombosis as a potential therapeutic target for diabetic and obese patients with HFpEF.

Key words: Heart failure, endothelial dysfunction, Hedgehog signalling

**INSERM U1034 Biologie des maladies cardiovasculaires
1 avenue Magellan
33600 PESSAC**