



**HAL**  
open science

**Mise en évidence d'une transition  
endothéliale/mésenchymateuse dans les lésions  
vasculaires pulmonaires d'hypertension artérielle  
pulmonaire par microscopie corrélative**

Benoit Ranchoux, Catherine Rucker-Martin, Sophie S. Chat, Martine  
Letheule, Frédéric Perros, Christine Péchoux

► **To cite this version:**

Benoit Ranchoux, Catherine Rucker-Martin, Sophie S. Chat, Martine Letheule, Frédéric Perros, et al.. Mise en évidence d'une transition endothéliale/mésenchymateuse dans les lésions vasculaires pulmonaires d'hypertension artérielle pulmonaire par microscopie corrélative. 12. Journées de formation du RCCM (Réseau des Centres Communs de Microscopie), May 2013, Poitiers, France. 2013. hal-02811011

**HAL Id: hal-02811011**

**<https://hal.inrae.fr/hal-02811011v1>**

Submitted on 6 Jun 2020

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

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

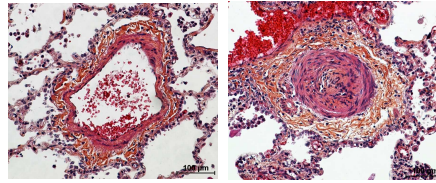
# Mise en Evidence d'une transition endothéliale/mésenchymateuse dans les lésions vasculaires pulmonaires d'hypertension artérielle pulmonaire par microscopie corrélative

Benoit Ranchoux\*, Catherine Rucker-Martin\*, Sophie Chat<sup>§</sup>, Martine Letheule<sup>§</sup>, Frédéric Perros\*, Christine Péchoux<sup>§</sup>

\*INSERM UMR-S 999, Centre Chirurgical Marie Lannelongue, Faculté de Médecine Paris Sud XI, LE PLESSIS ROBINSON

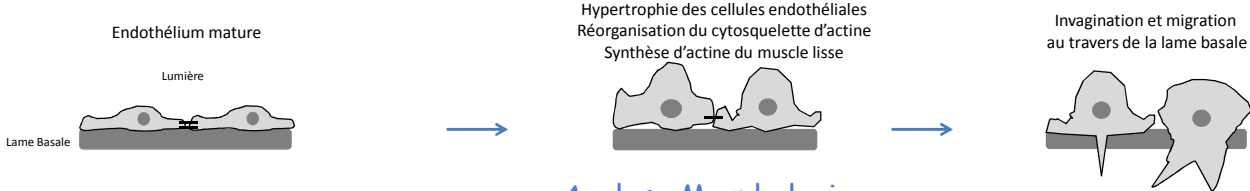
<sup>§</sup>INRA U1196, Génomique et Physiologie de la Lactation – Plateau de Microscopie Electronique à Transmission – JOUY-EN-JOSAS

L'Hypertension Artérielle Pulmonaire (HTAP) consiste en l'obturation des artères pulmonaires de diamètre inférieur à 500 µm qui serait la conséquence d'une prolifération et d'une migration de cellules myofibroblastiques et/ou endothéliales de la média/adventice vers l'intima.

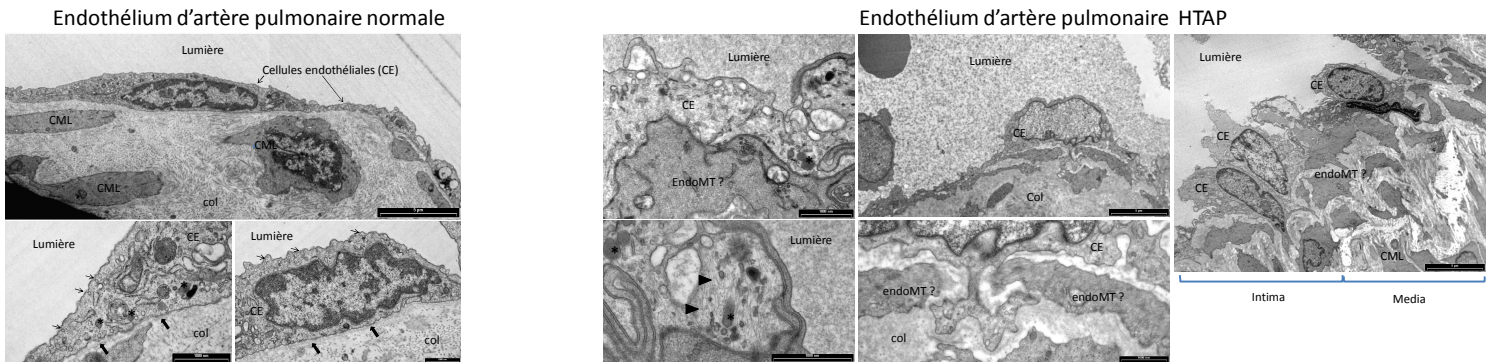


Par opposition à un remodelage centripète, nous avons émis l'hypothèse que l'obturation des artères serait la conséquence d'une transdifférenciation des cellules endothéliales (CD31+) en cellules mésenchymateuses (actine α du muscle lisse +) : « obturation centrifuge ».

## Transition endothéliale/mésenchymateuse



## Analyse Morphologique

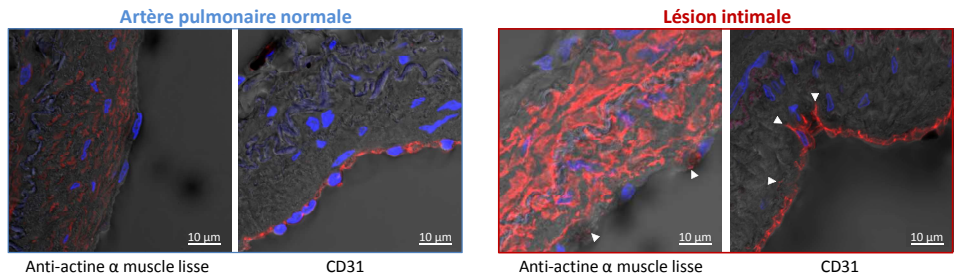
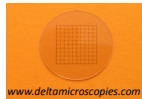


Lame basale : — ; Cavéoles : —> ; Filaments du cytosquelette d'actine : ► ; Corps de Weibel-Palade : \* ; CE : Cellules endothéliales ; EndoMT : Endo Mésenchymateuse Transition ; CML : Cellules Musculaire Lisses ; Col : collagène

## Analyse par Microscopie Corrélative

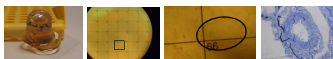
### I. Microscopie Confocale

Prélèvements et fixation des tissus  
Coupes de 10µm – dépôt sur lamelles rondes avec repérage  
Immunomarquage  
Anti-actine α muscle lisse  
Anti-CD31  
Anticorps Ilaire : anti-souris Nanogold Alexa 594  
Observation Confocale (Zeiss LSM700)

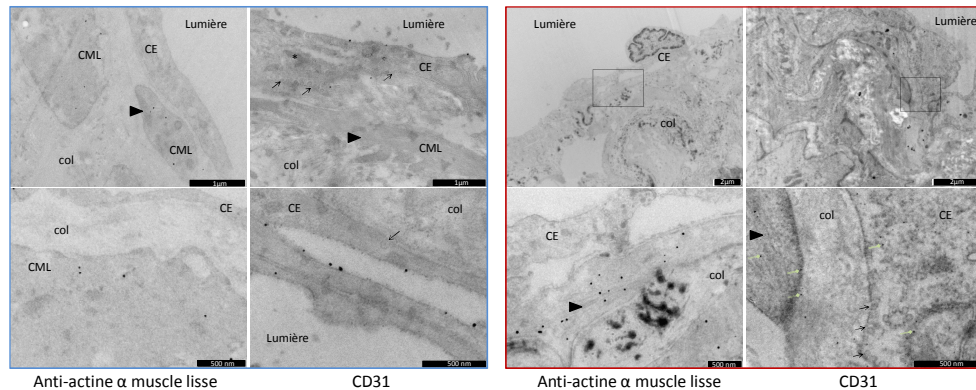


### II. Microscopie Electronique à Transmission

Post-fixation au Glutaraldéhyde  
Amplification à l'Or  
Fixation à l'Osmium – déshydratation  
Enrobage et polymérisation  
Repérage des zones d'intérêt - coupes semi-fine



Sélection de l'artère – coupes ultra-fine  
Observation MET (Zeiss EM902)



Grâce à la microscopie électronique (MET), nous avons pu montrer que les lésions intimales observées dans l'HTAP sont bien la conséquence d'une transdifférenciation des cellules endothéliales en cellules mésenchymateuses. Cet évènement qui ne représente qu'1% de la masse pulmonaire totale ne peut être abordé directement en MET et nécessite une approche de sélection des zones d'intérêt par microscopie optique suivie d'une lecture en MET. De plus, le poumon étant un organe alvéolaire mou, sa structure est difficilement conservée par les approches d'immunolocalisation classiques en MET (résines hydrophiles, Cryo-MET) et l'analyse par microscopie corrélative se révèle être une bonne alternative.