



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-02811011>

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.

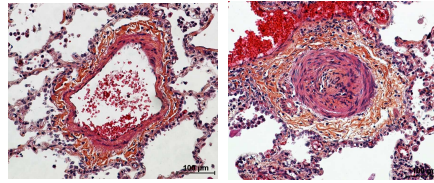
Mise en Evidence d'une transition endothéliale/mésenchymateuse dans les lésions vasculaires pulmonaires d'hypertension artérielle pulmonaire par microscopie corrélative

Benoit Ranchoux*, Catherine Rucker-Martin*, Sophie Chat[§], Martine Letheule[§], Frédéric Perros*, Christine Péchoux[§]

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

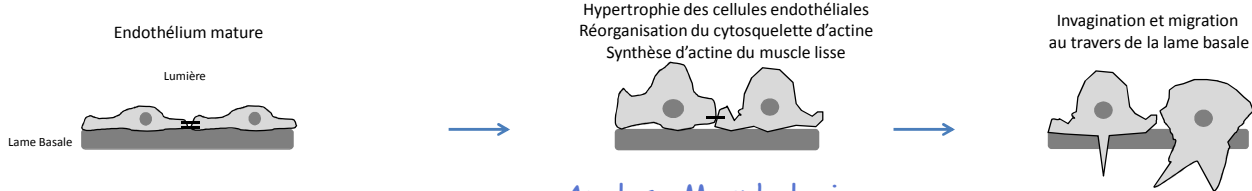
[§]INRA U1196, Génomique et Physiologie de la Lactation – Plateau de Microscopie Electronique à Transmission – JOUY-EN-JOSAS

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.

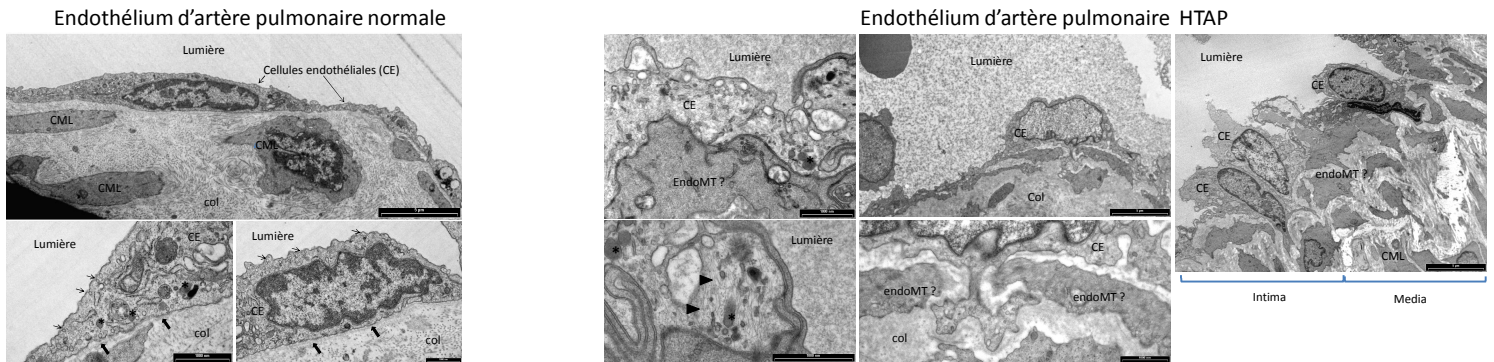


Par opposition à un remodelage centripète, nous avons émis l'hypothèse que l'obturation des artères serait la conséquence d'une transdifférenciation des cellules endothéliales (CD31+) en cellules mésenchymateuses (actine α du muscle lisse +) : « obturation centrifuge ».

Transition endothéliale/mésenchymateuse



Analyse Morphologique

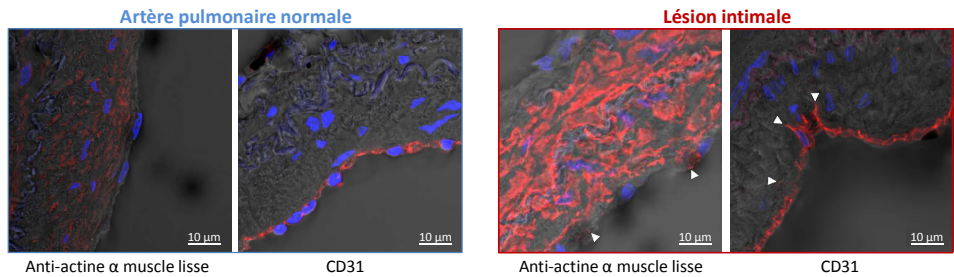
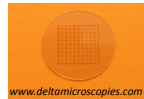


Lame basale : — ; Cavéoles : —> ; Filaments du cytosquelette d'actine : ► ; Corps de Weibel-Palade : * ; CE : Cellules endothéliales ; EndoMT : Endo Mésenchymateuse Transition ; CML : Cellules Musculaire Lisses ; Col : collagène

Analyse par Microscopie Corrélative

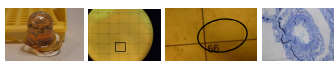
I. Microscopie Confocale

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)

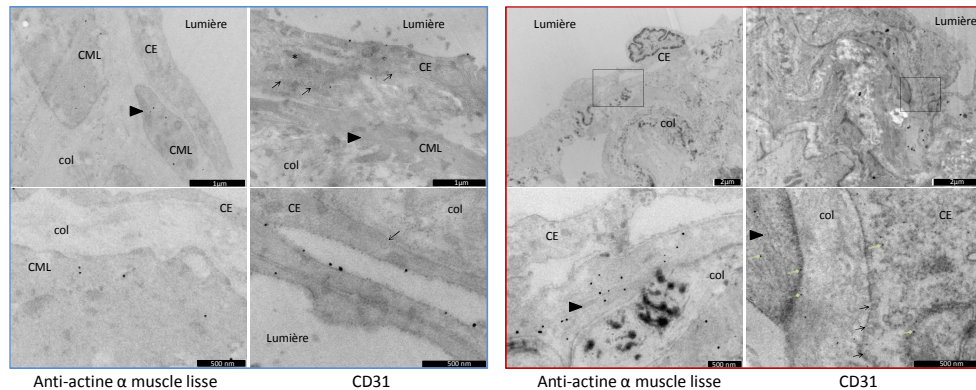


II. Microscopie Electronique à Transmission

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.