

L'endothélium vasculaire : interface dynamique entre sang et vaisseaux

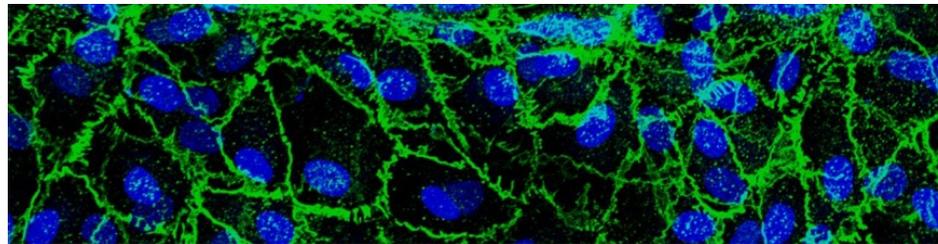
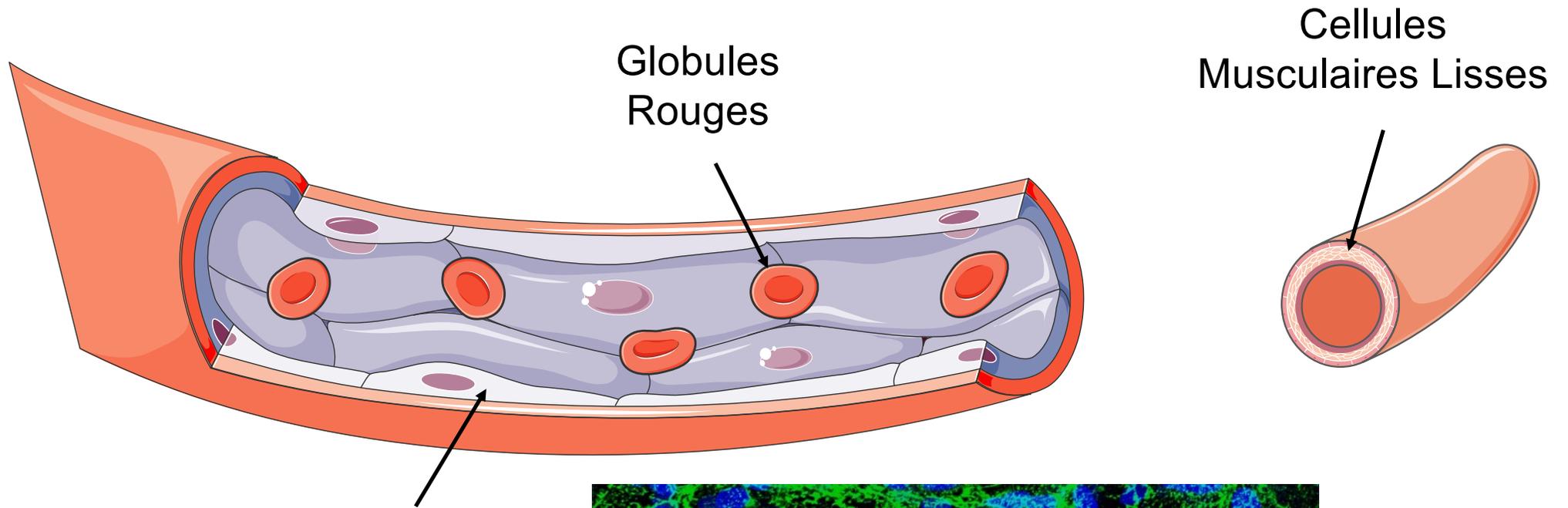
François SALLER

francois.saller@universite-paris-saclay.fr

Jeudi 24 Octobre 2024

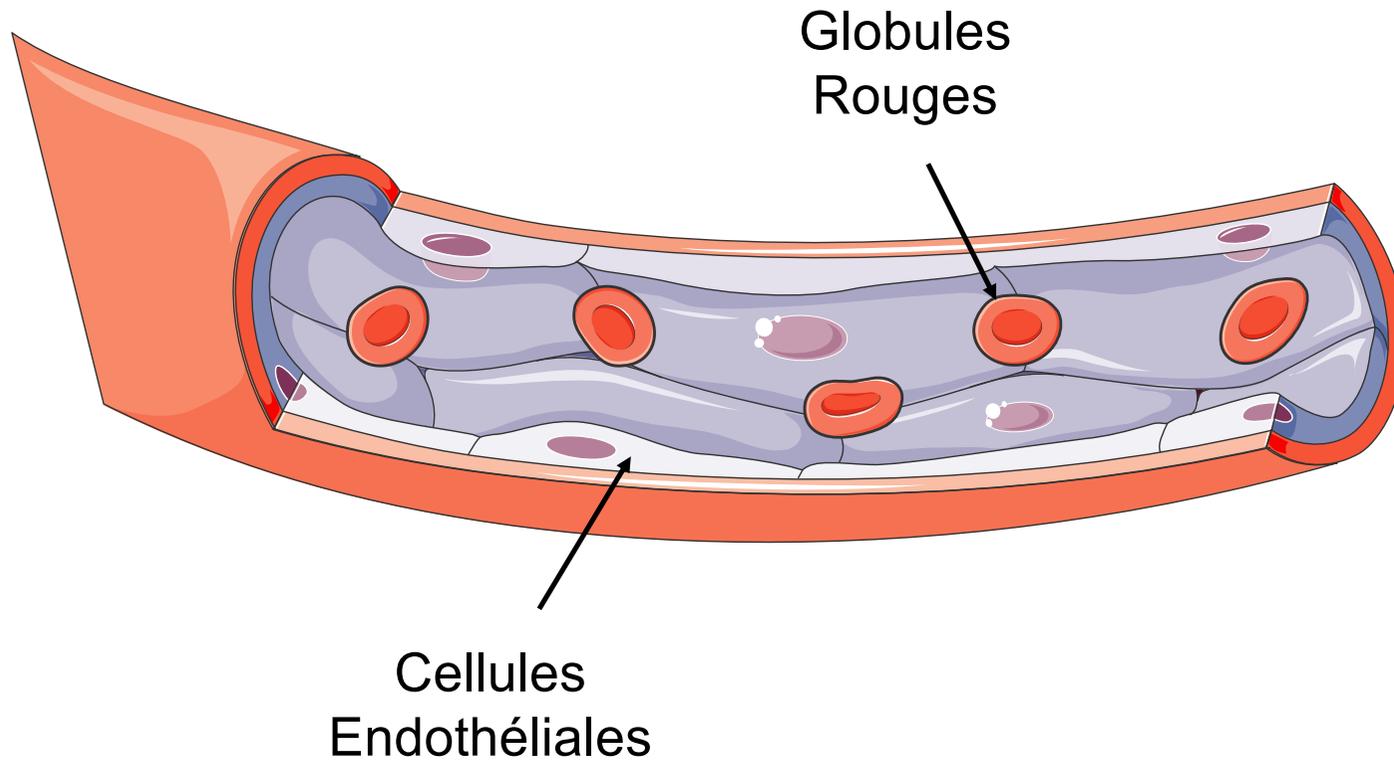


Les vaisseaux sanguins

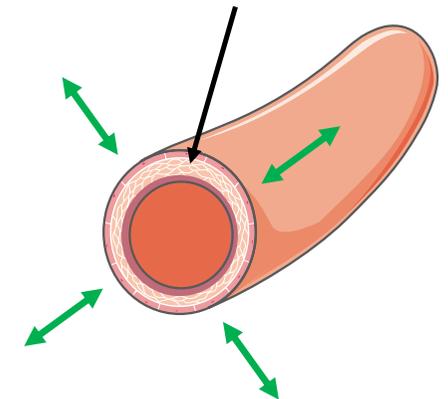


Endothélium vasculaire

Les vaisseaux sanguins



Cellules
Musculaires Lisses

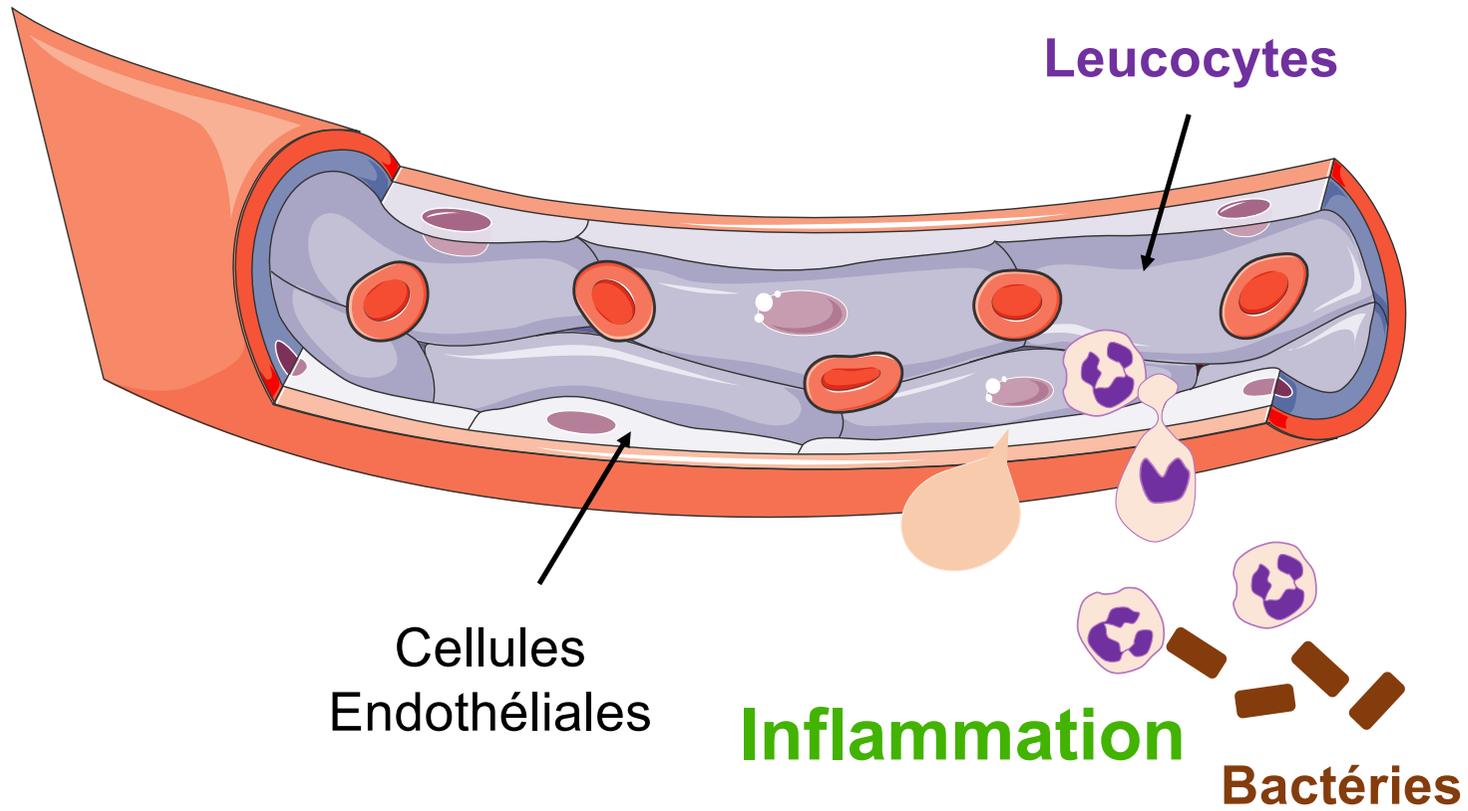


Vasoconstriction

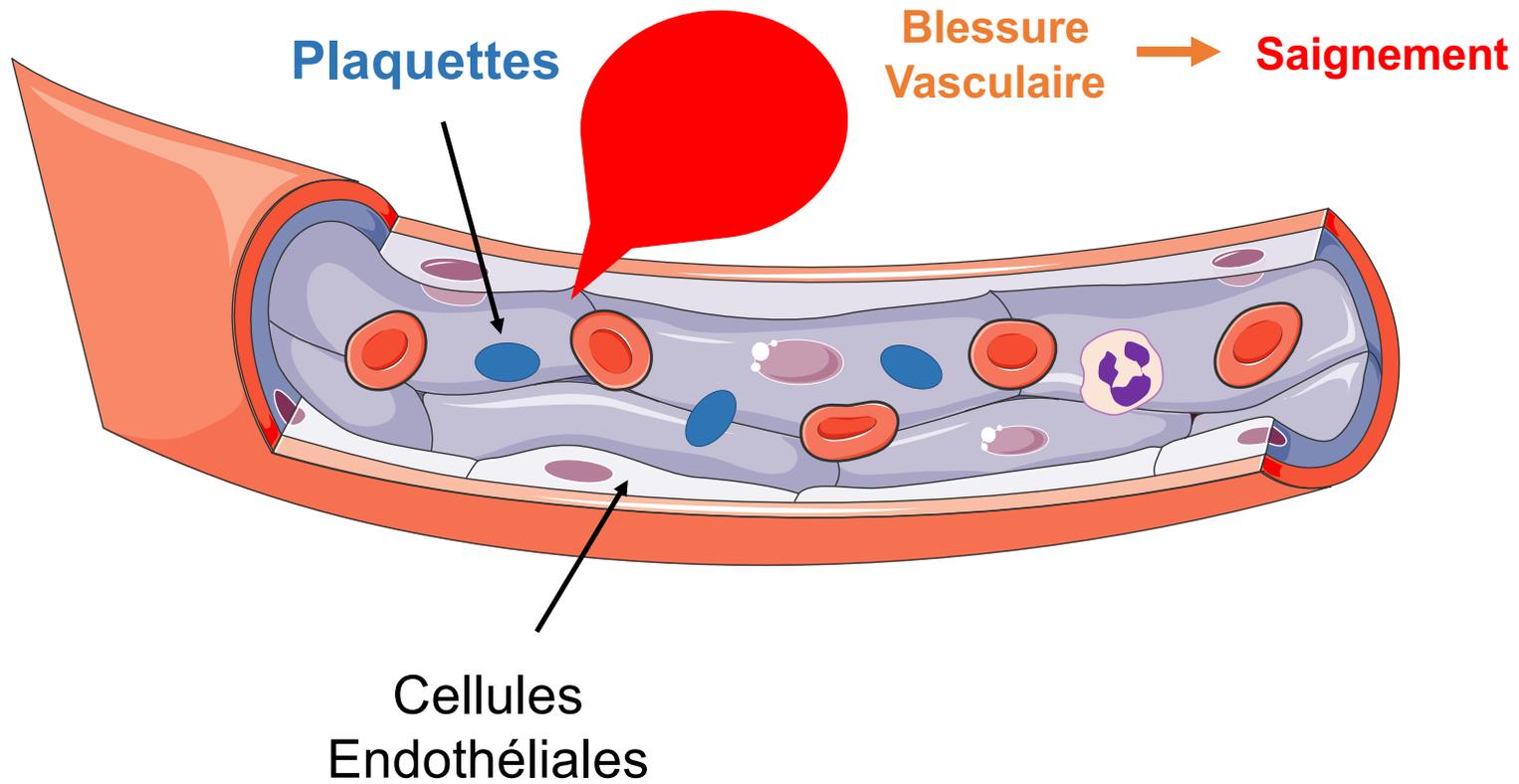
Vasodilatation

Tonus Vasculaire

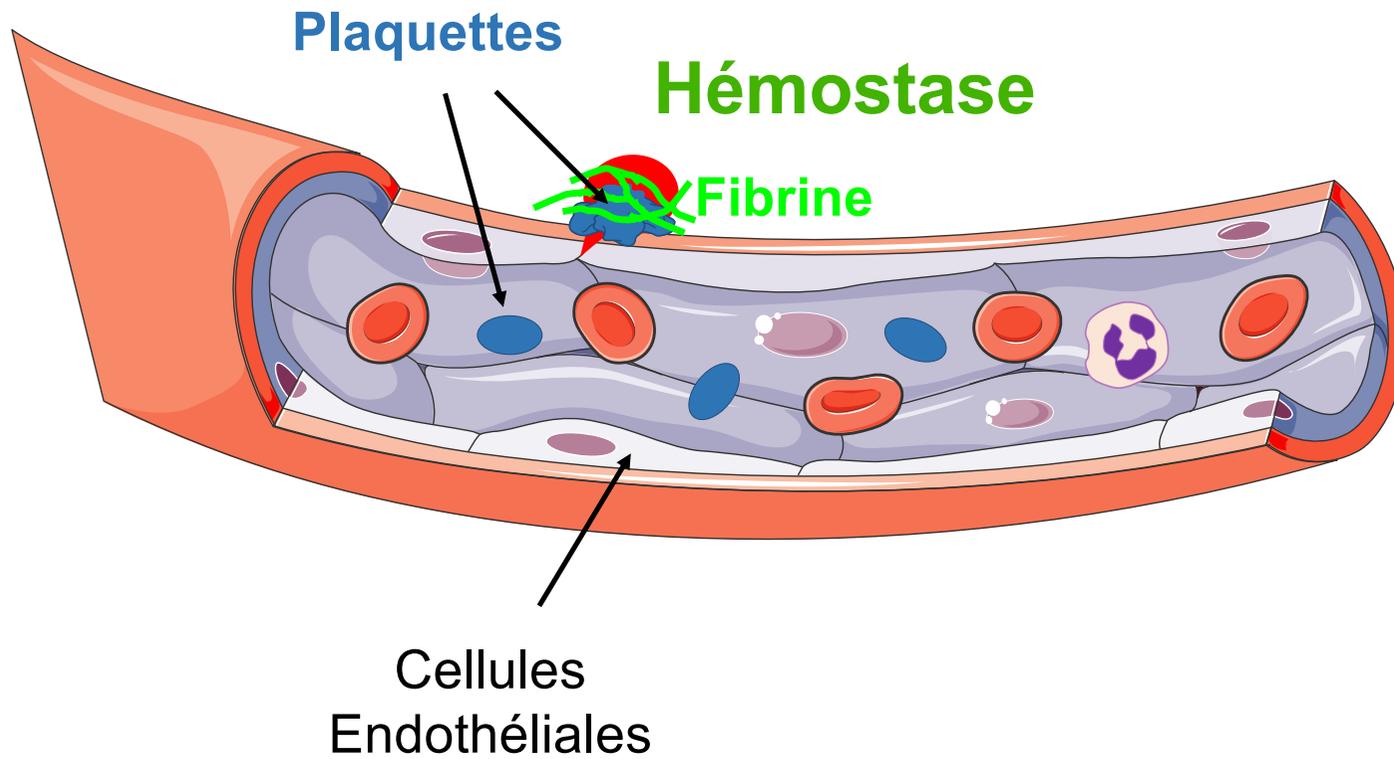
Les vaisseaux sanguins



Les vaisseaux sanguins



Les vaisseaux sanguins

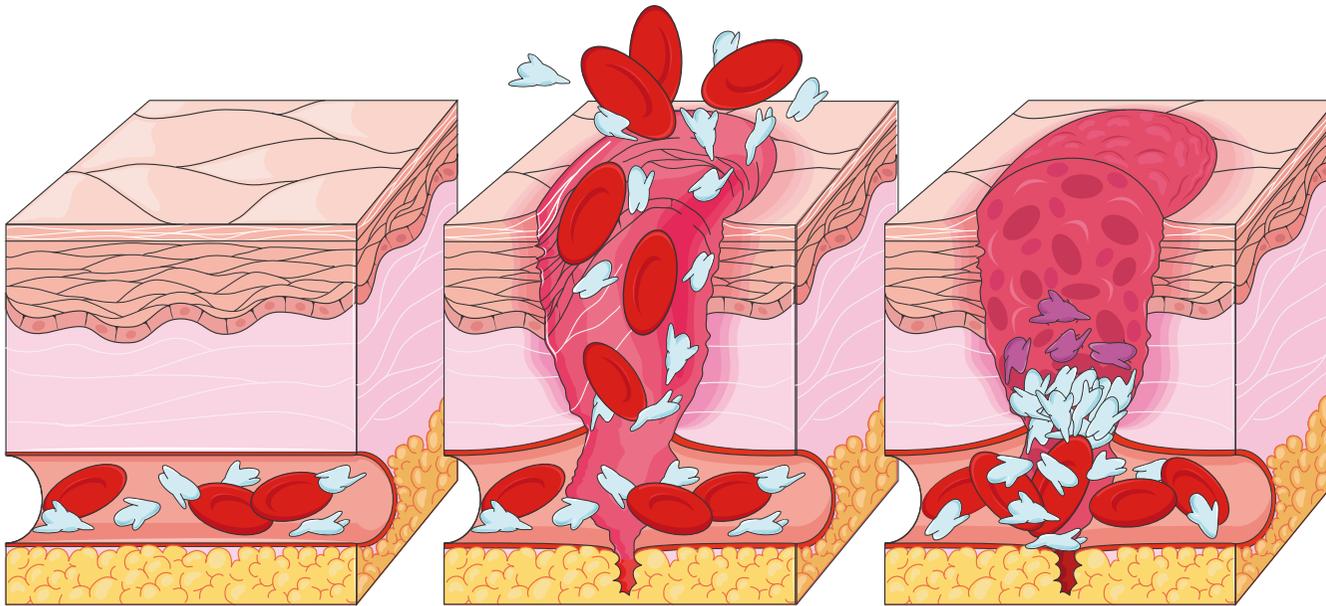


Hémostase

Brèche Vasculaire



Arrêt du Saignement

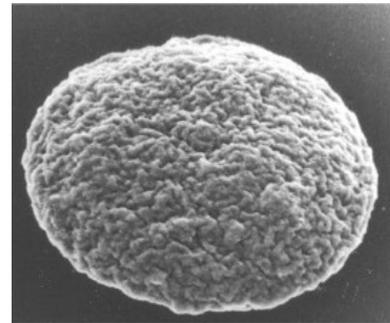


Hémostase primaire
(Plaquettes)

Coagulation

Fibrinolyse

Rôle des **plaquettes** dans l'hémostase et les thromboses

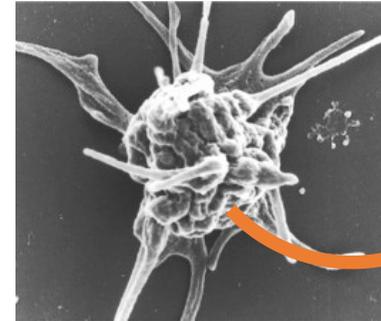


Plaquettes **au repos**

Agonistes
plaquettaires



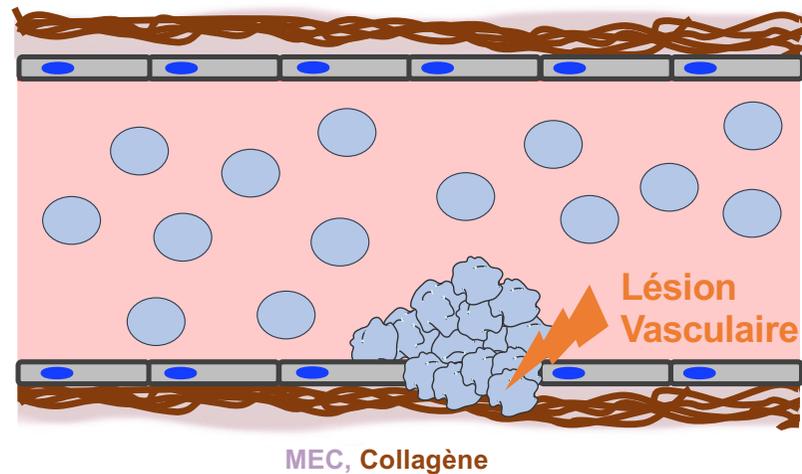
Collagène
Facteur Willebrand
ADP
TXA2
Thrombine
...



Plaquettes **activées**

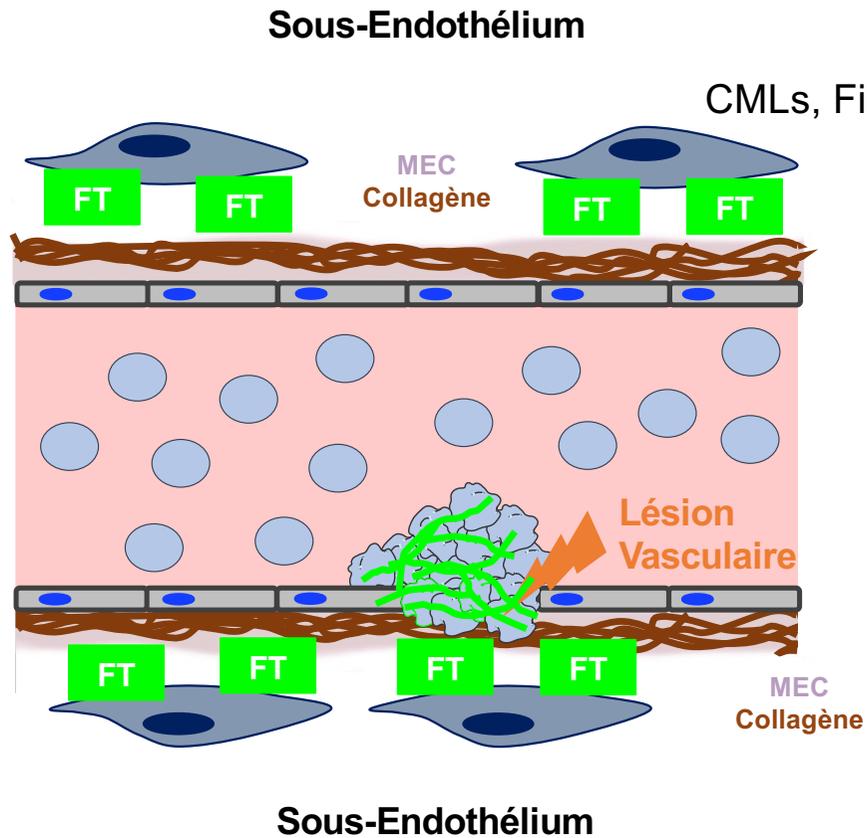


Sécrétion



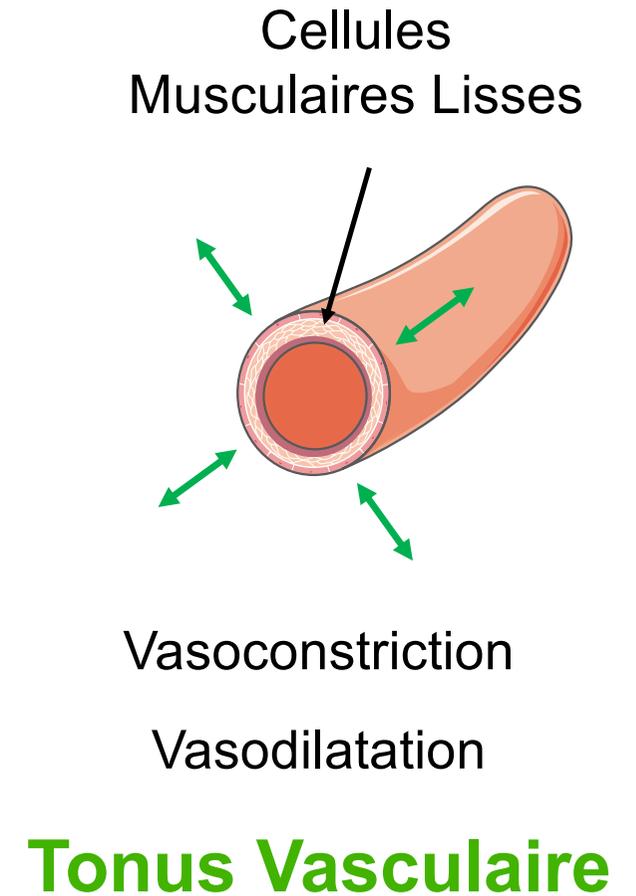
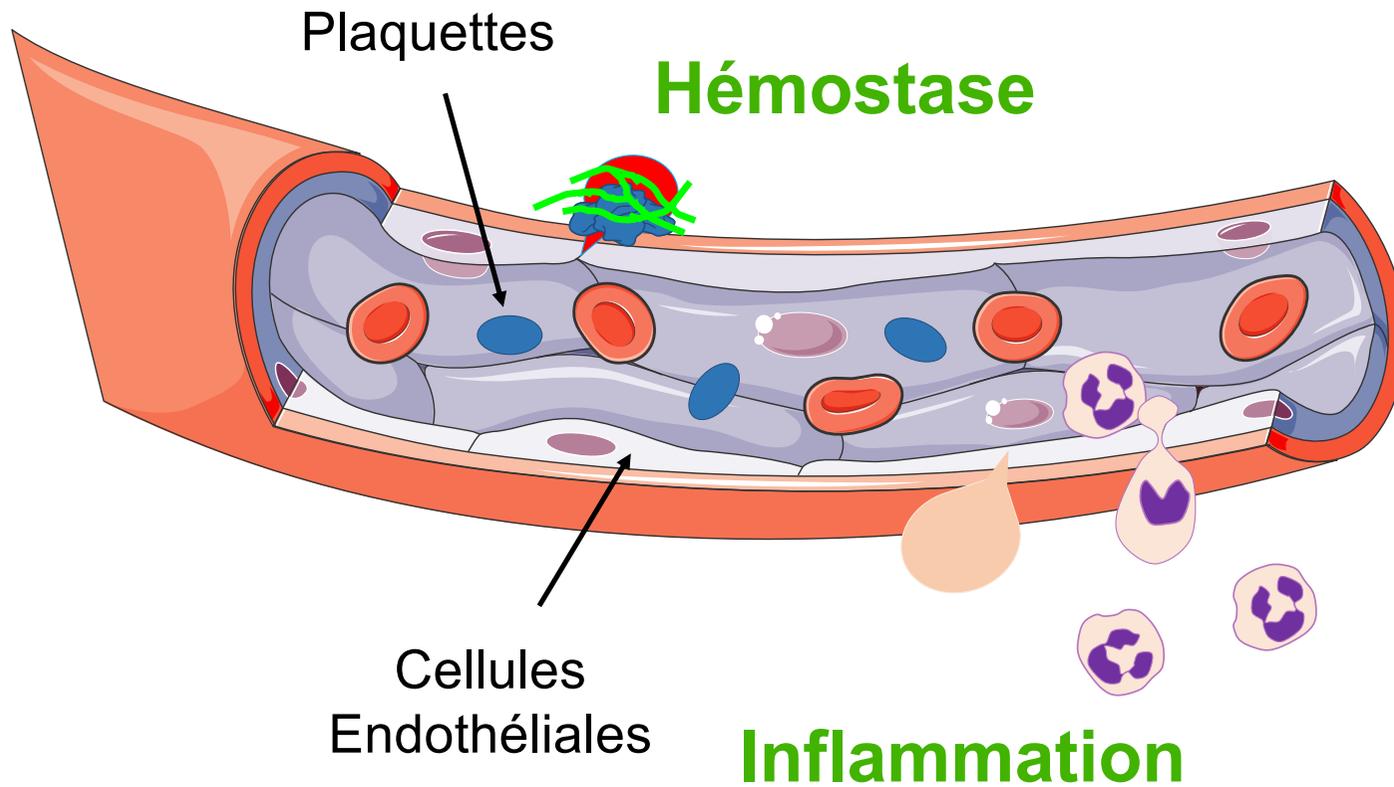
Activation + Agrégation
des plaquettes

Cascade de la coagulation

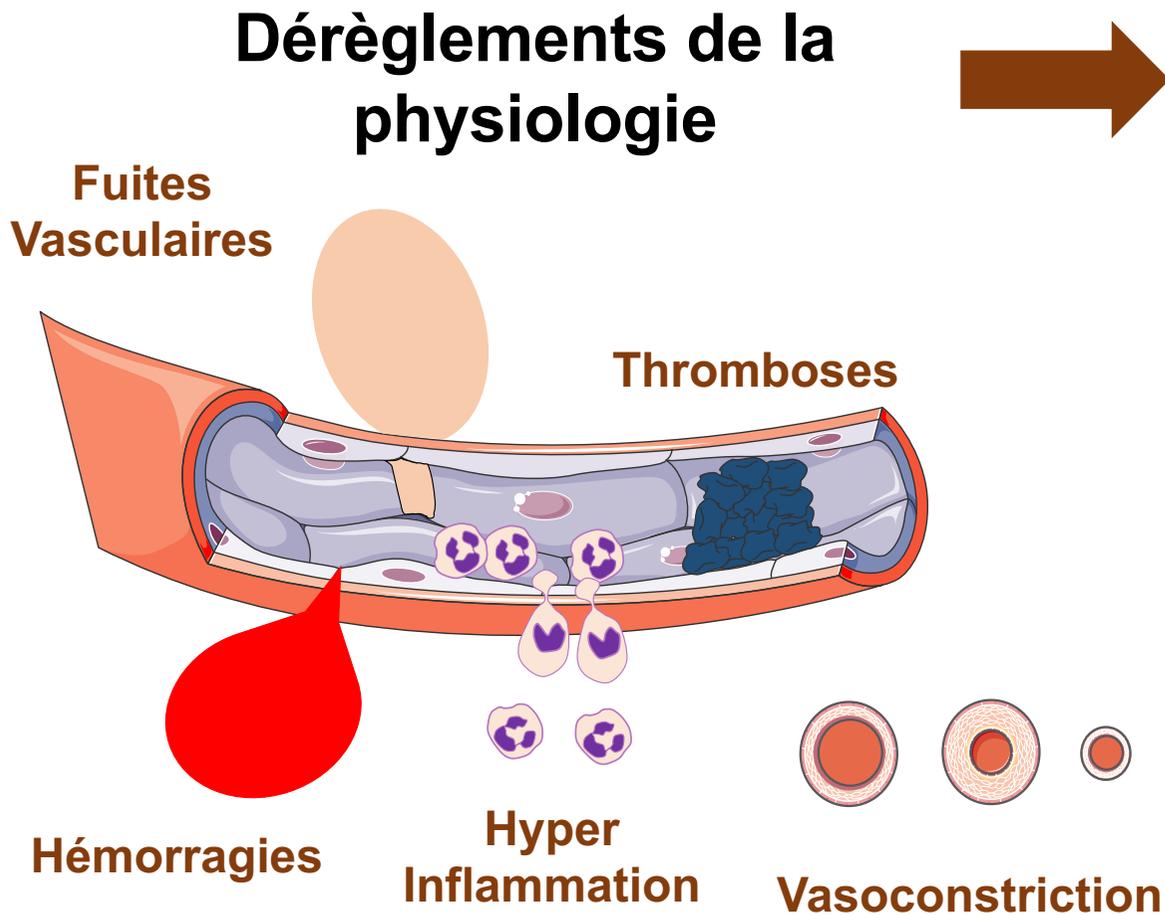


FT = Facteur Tissulaire (FT)
Déclencheur de la
coagulation
en « activant » le FVIIa

Réponses **physiologiques** du vaisseau sanguin



Mécanismes **physiopathologiques** en biologie vasculaire



Pathologies

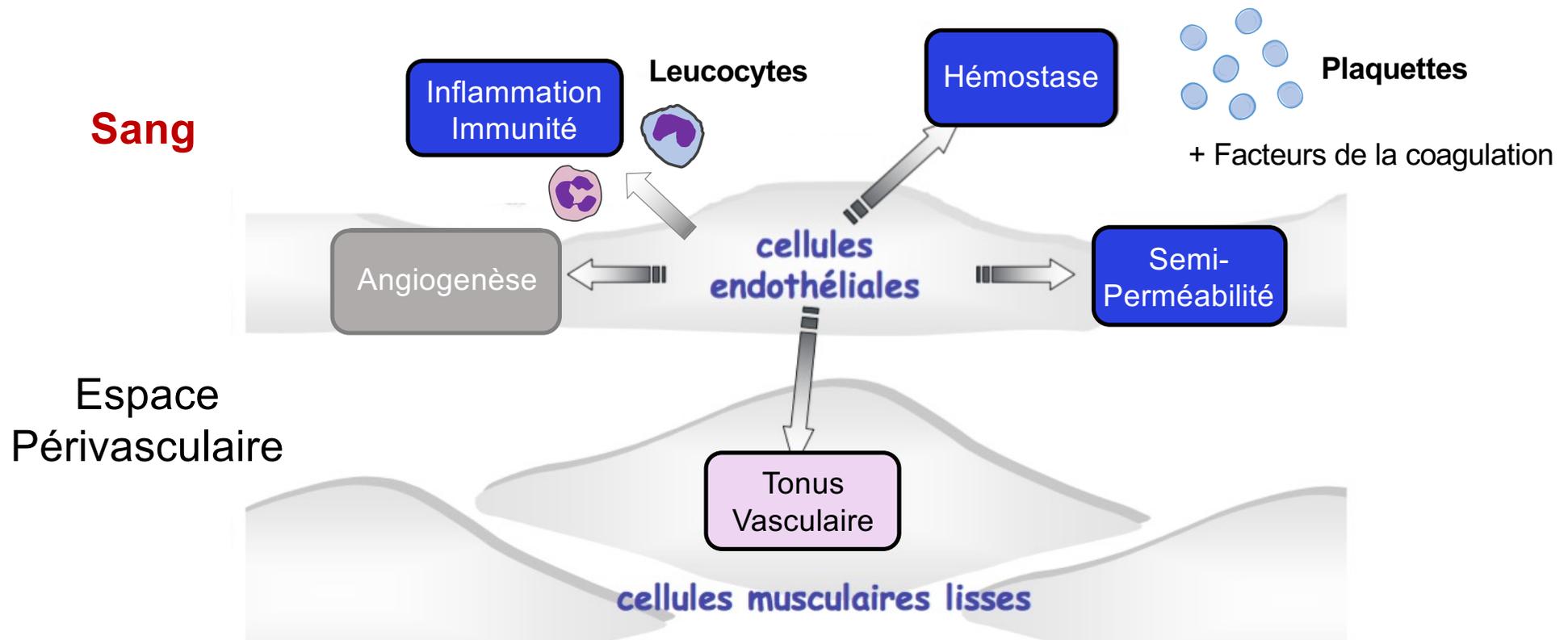
Maladies hémorragiques
Maladies thrombotiques
Sepsis
Dengue sévère
Méningococcémie
Drépanocytose
Athérosclérose
Hypertensions pulmonaires

...

Fonctions physiologiques des cellules endothéliales

Rôle **central** des cellules endothéliales

Mais **interactions** avec d'autres cellules **sanguines** et **extravasculaires**



Activation endothéliale

Endothélium « **sain** » ou « **quiescent** »

Endothélium « **Activé** »



Virus



Bactéries

TNF- α

Médiateurs inflammatoires



Anticorps



Perturbation du flux sanguin

pO₂ ↓

Hypoxie



Globules rouges anormaux



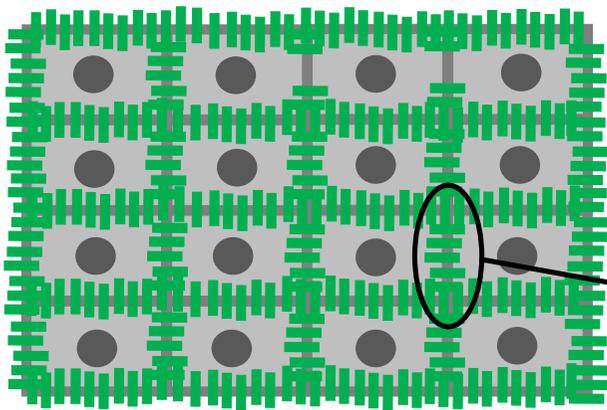
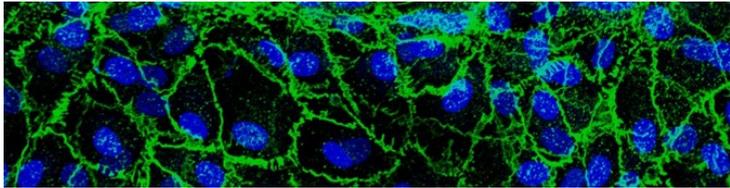
Médicaments

Etc...

L'endothélium est naturellement semi-perméable

Monocouche de cellules endothéliales
en culture

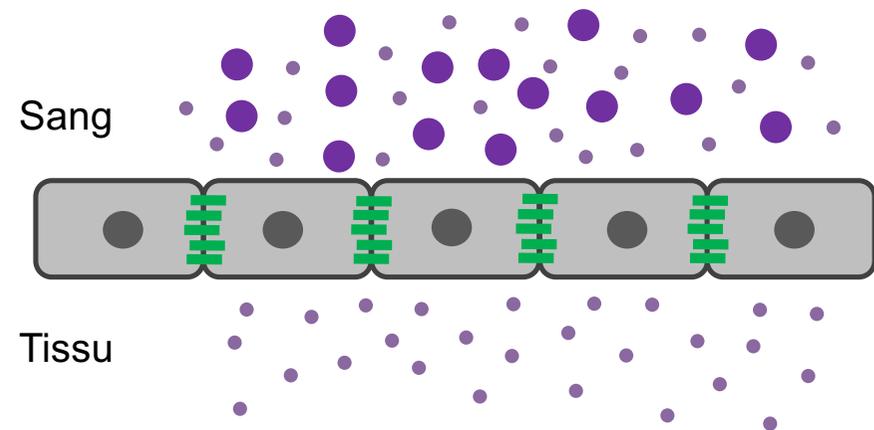
(Marquage avec **anti-VE cadhérine FITC**)



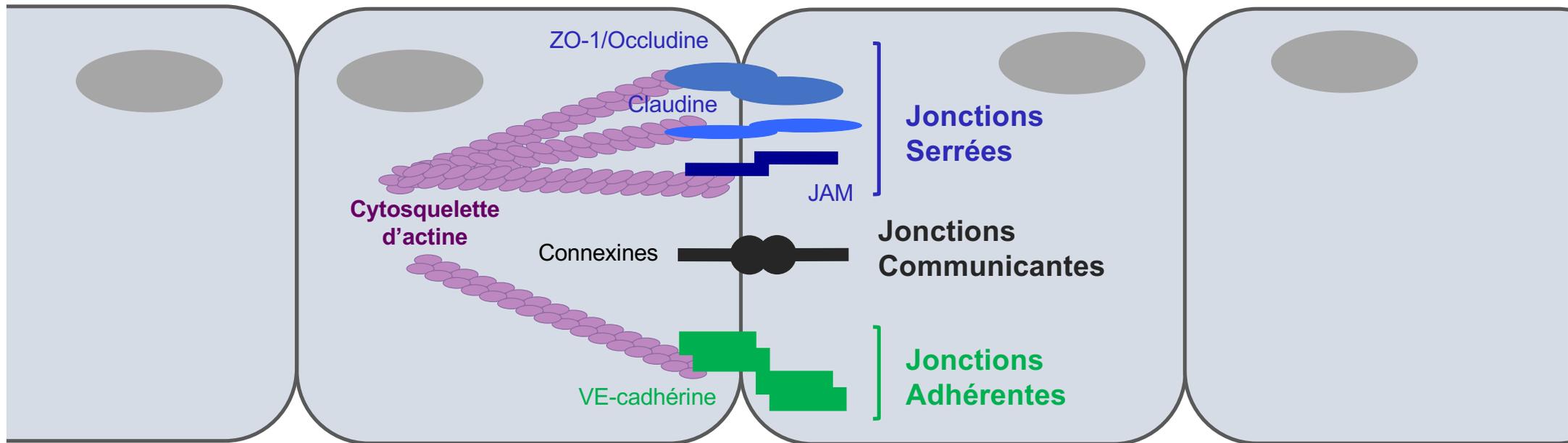
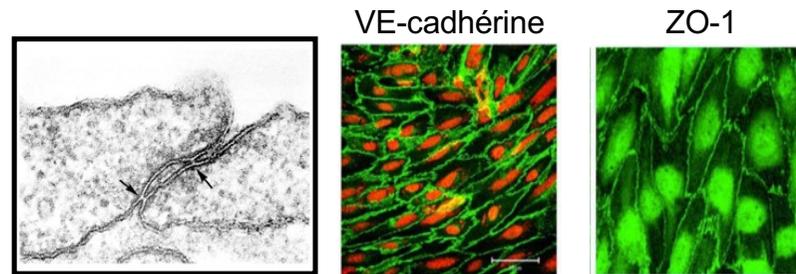
**Jonctions
Inter-Endothéliales**

Perméabilité essentiellement
dépendante de la taille

= « **Semi-Perméabilité** »



Jonctions inter-endothéliales

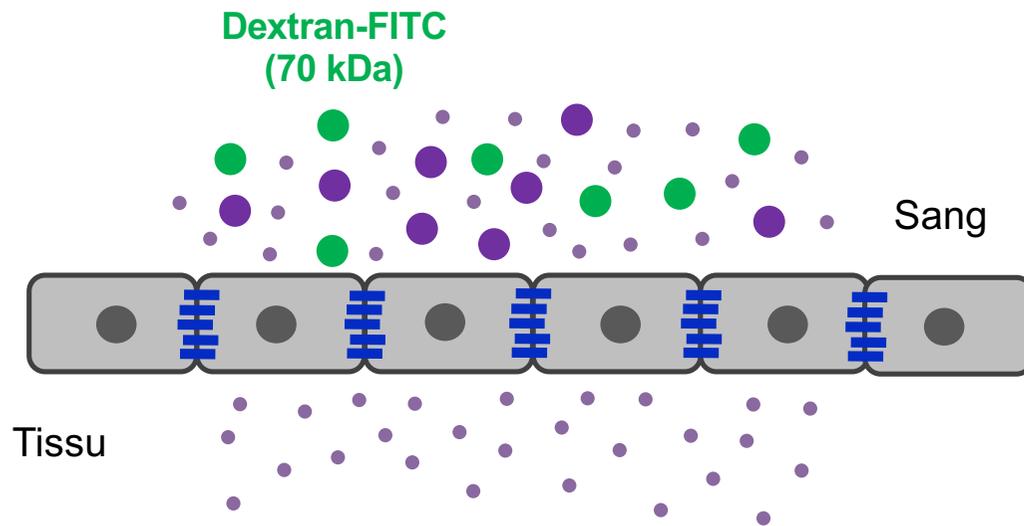
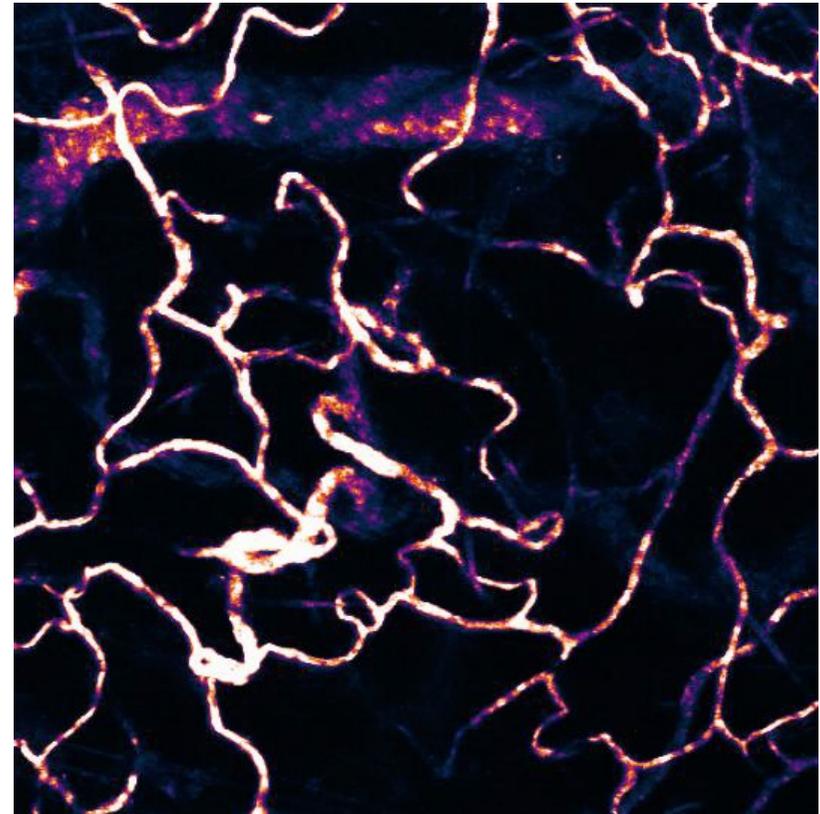
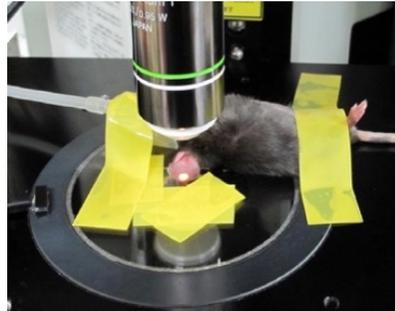


Observation de la semi-perméabilité *in vivo*

Microscopie intravitale

Microvaisseaux sous-cutanés
(Oreille de Souris)

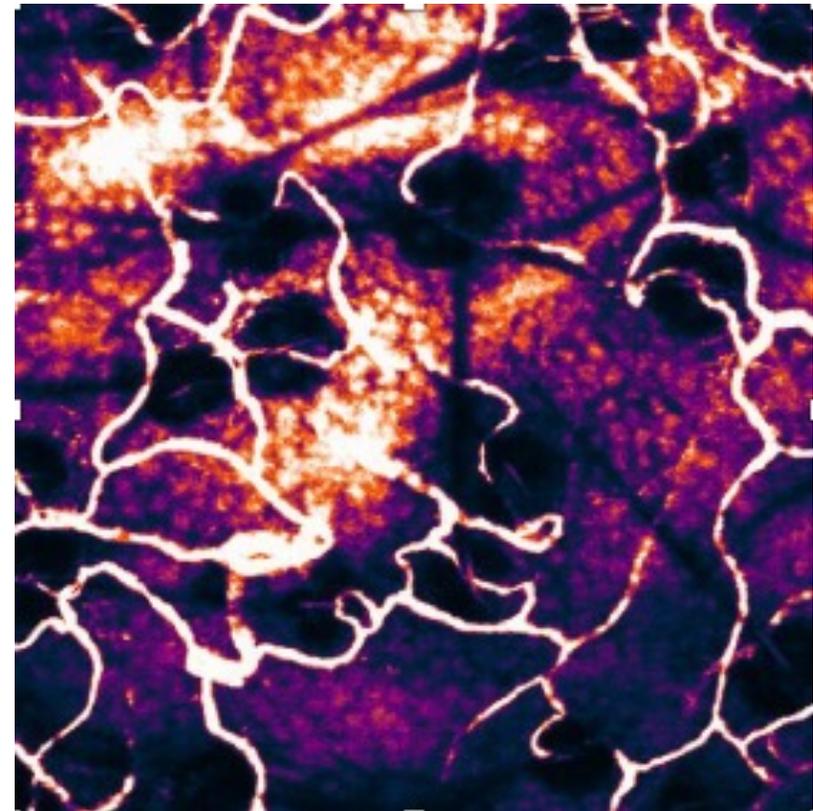
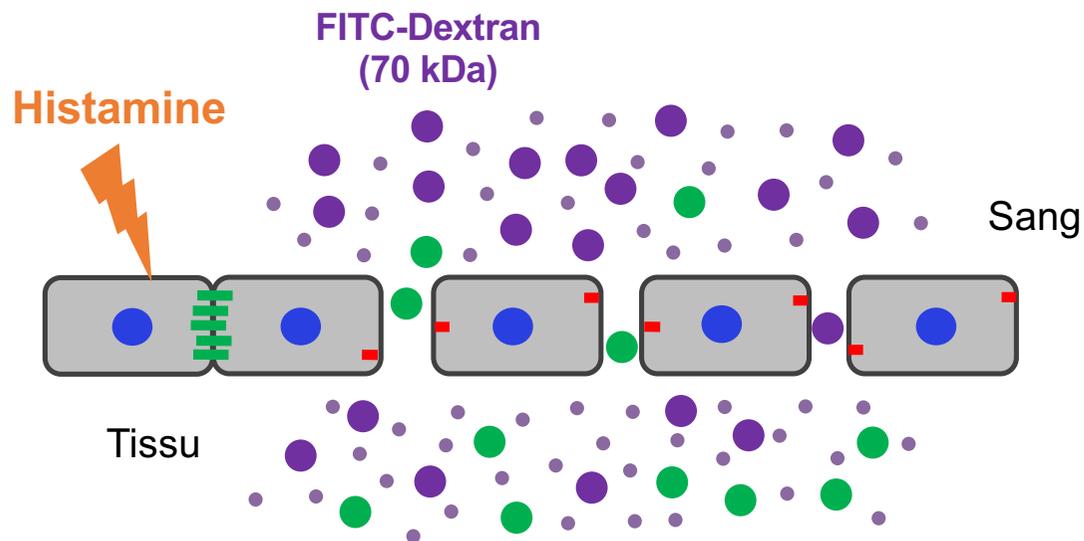
Injection d'un **traceur fluorescent**
dans la circulation (Dextran-FITC)



Observation de la perméabilité vasculaire *in vivo*

+ Histamine

Perméabilité due en grande partie à la
perte des jonctions inter-cellulaires



Exemples d'hyper-perméabilité pathologique

La perméabilité vasculaire est une **réponse physiologique** au cours de l'inflammation, si elle est **transitoire** et bien **contrôlée**

L'**hyper-perméabilité** (perméabilité vasculaire prolongée, non contrôlée et exacerbée) est **pathologique**

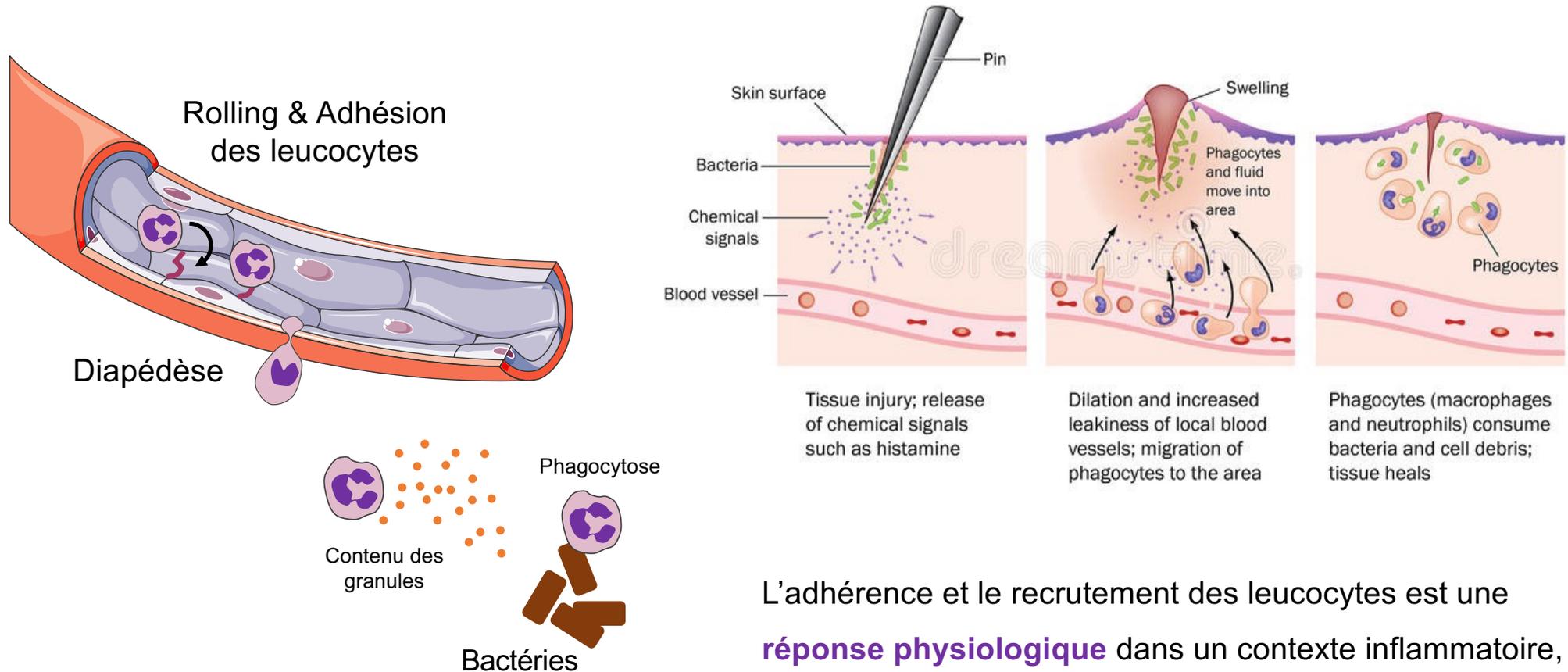
Angioedème Hériditaire



Syndrome de Fuites Capillaires

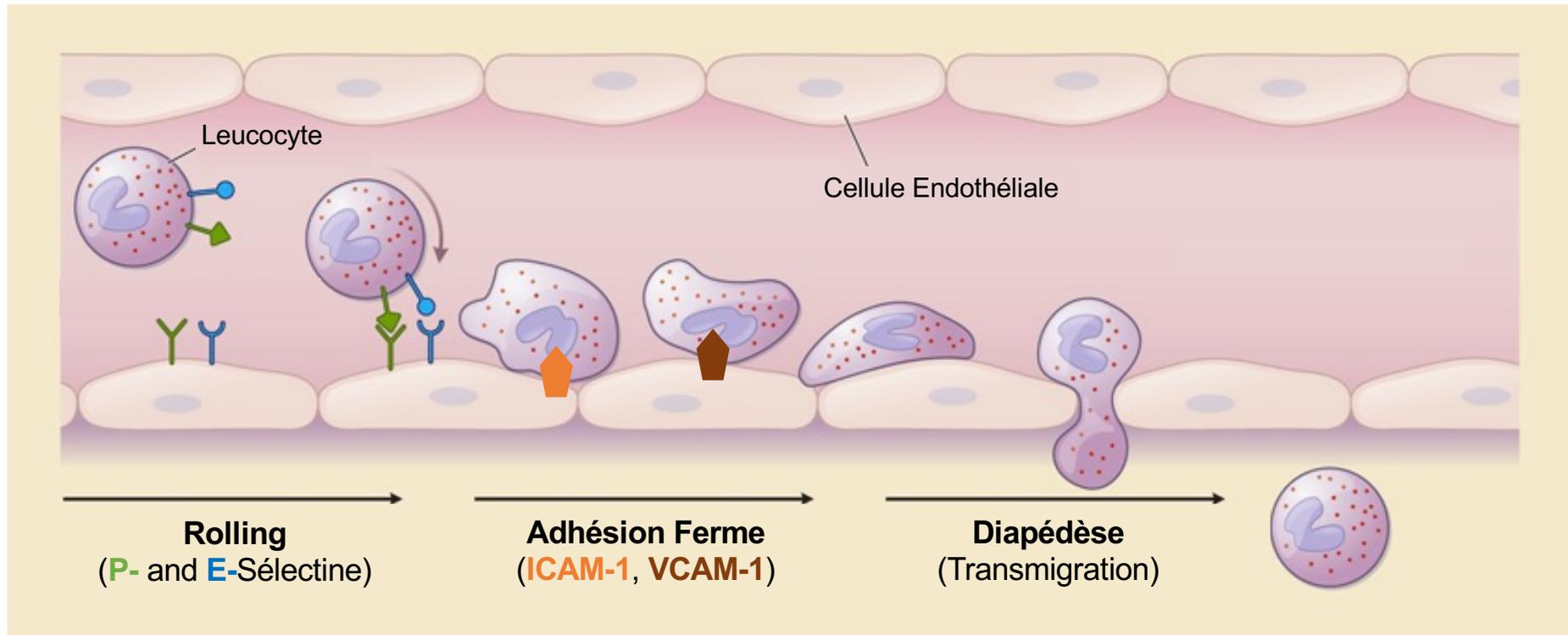


Rôle central de l'endothélium activé dans l'inflammation



L'adhérence et le recrutement des leucocytes est une **réponse physiologique** dans un contexte inflammatoire, si ces processus sont transitoires et bien contrôlés

Recrutement leucocytaire par un endothélium activé



Source: Goldsmith LA, Katz SI, Gilchrist BA, Paller AS, Leffell DJ, Wolff K: *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine, 8th Edition*: www.accessmedicine.com

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

P- and E-Sélectine

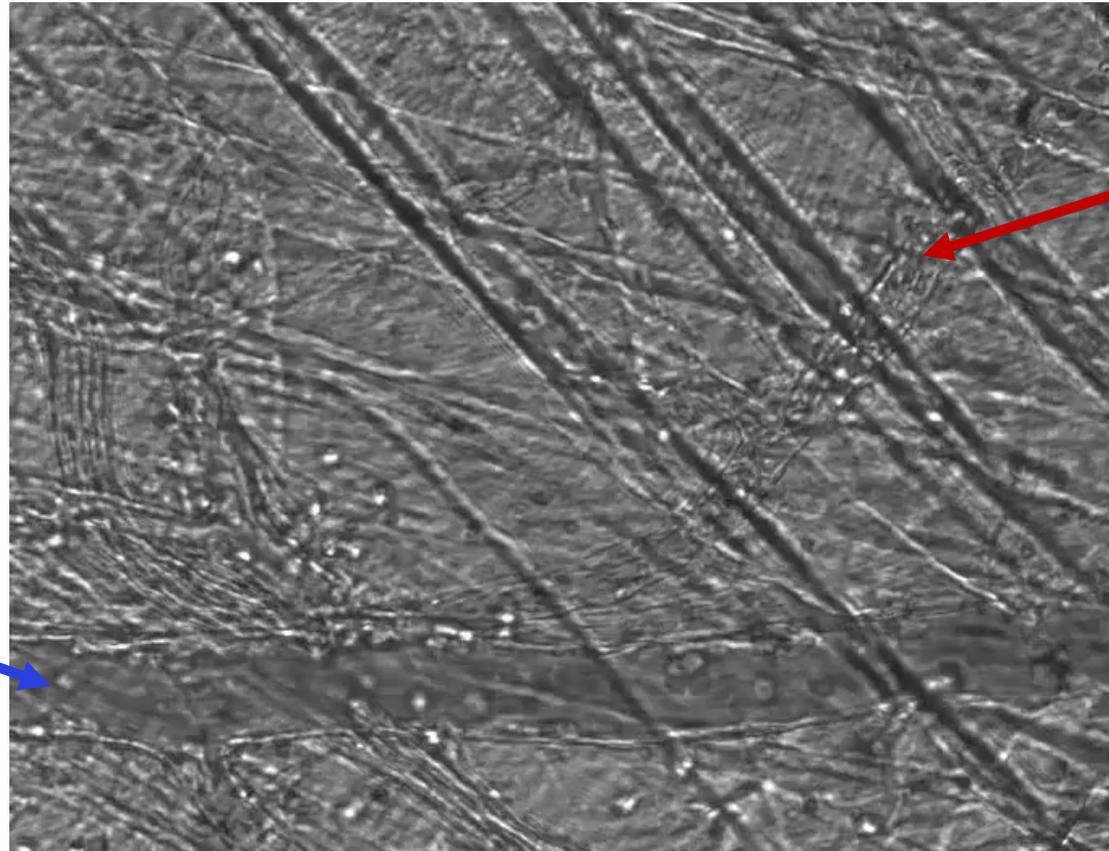
ICAM-1, VCAM-1

= « Molécules d'adhésion »

Recrutement leucocytaire par un endothélium activé

Observation en microscopie
intravitale des microvaisseaux
du muscle crémaster (Souris)

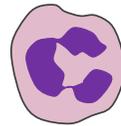
Veinule



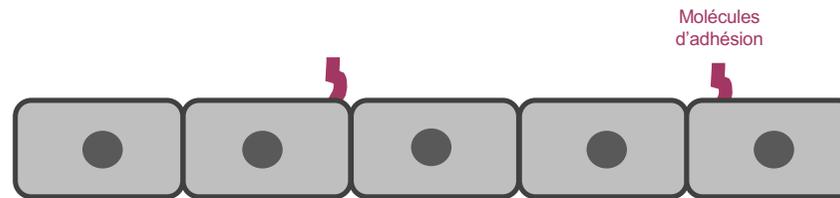
Artériole

Principalement au niveau des **veinules post-capillaires** dans la plupart des organes

Importance des molécules d'adhésion endothéliales

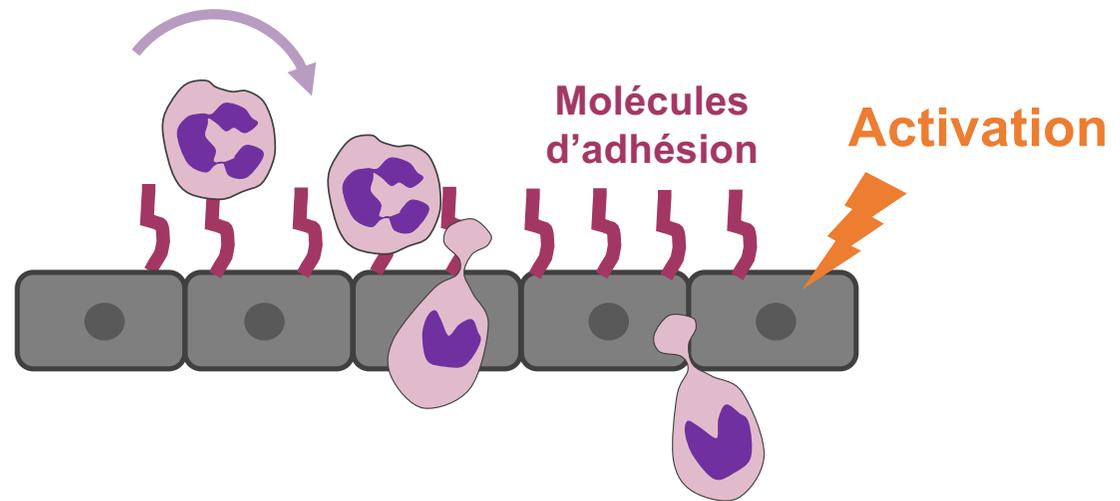


Pas ou très peu d'expression
des **molécules d'adhésion**
par un endothélium quiescent
(non activé)

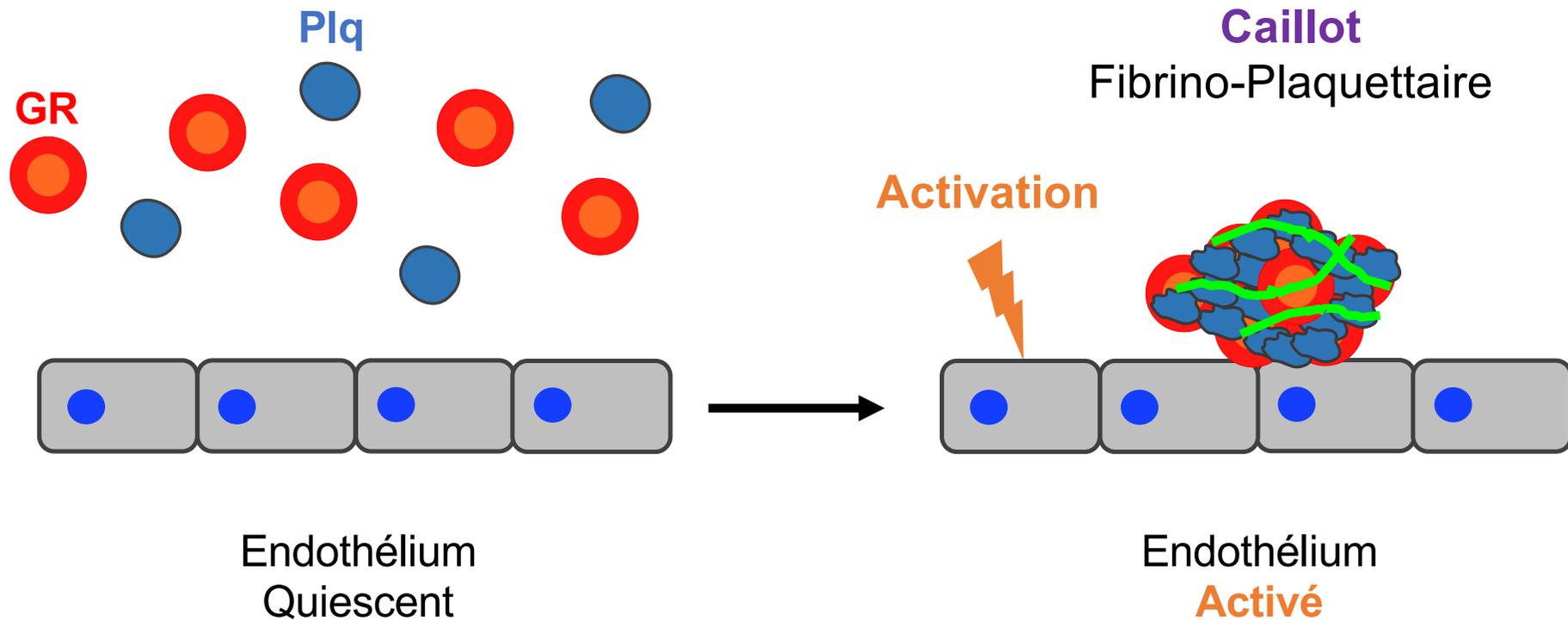


Importance des molécules d'adhésion endothéliales

Forte expression des
molécules d'adhésion par un
endothélium enflammé et
activé

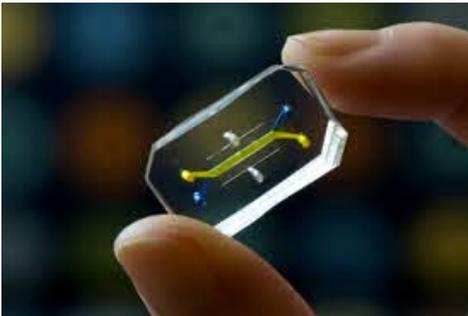


Réponses **thrombotiques** de l'endothélium vasculaire

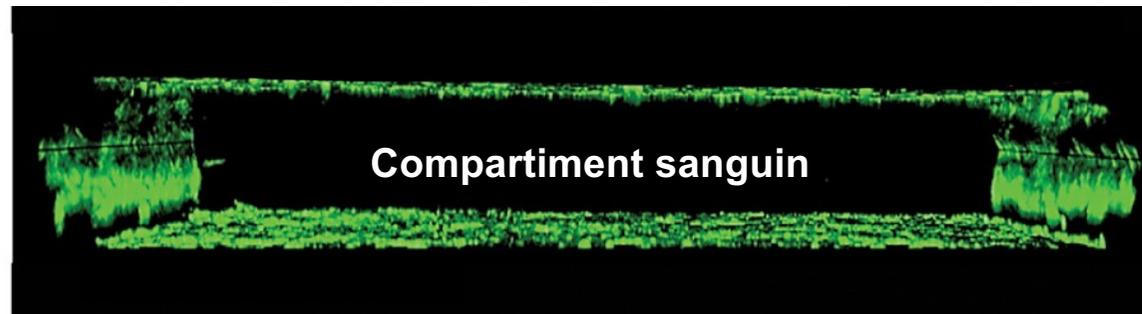


Modèle microfluidique de vaisseau sanguin

Puce



« Vaisseau sur puce »



Système microfluidique

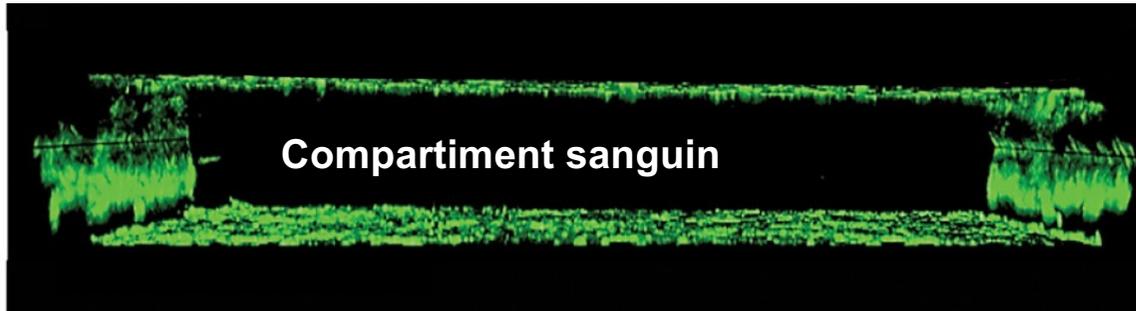


Cellules endothéliales humaines cultivées **sous flux**

Conditions « **physiologiques** »

Les cellules endothéliales acquièrent un phénotype **quiescent**

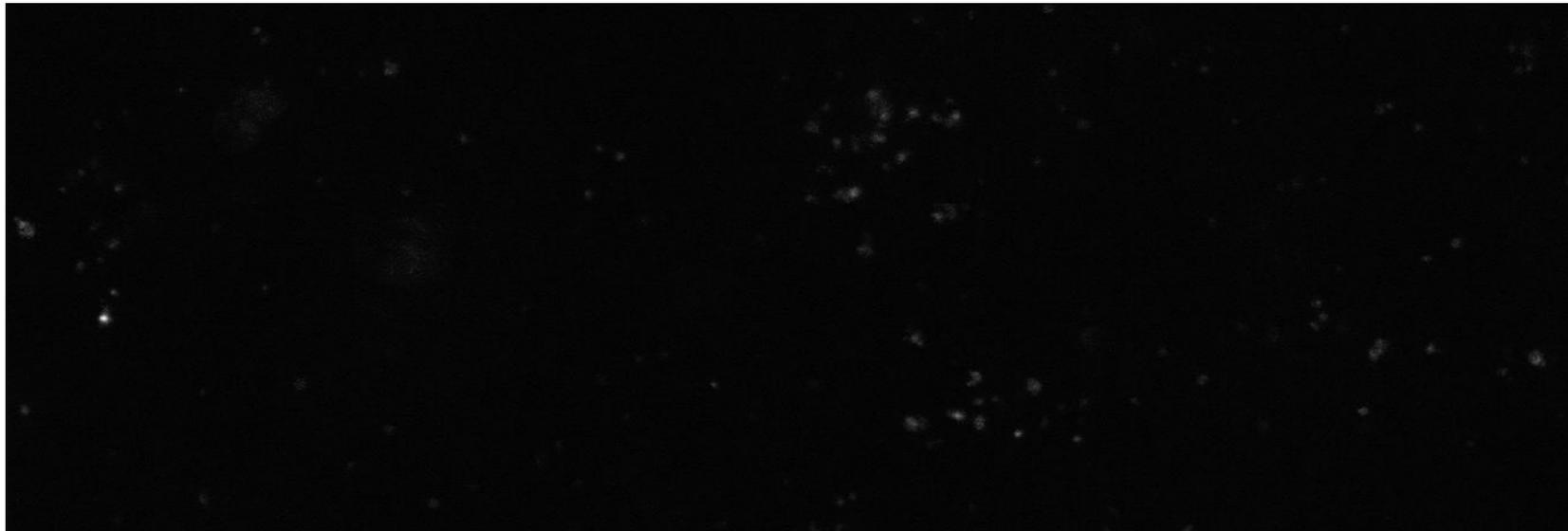
Modèle microfluidique de vaisseau sanguin



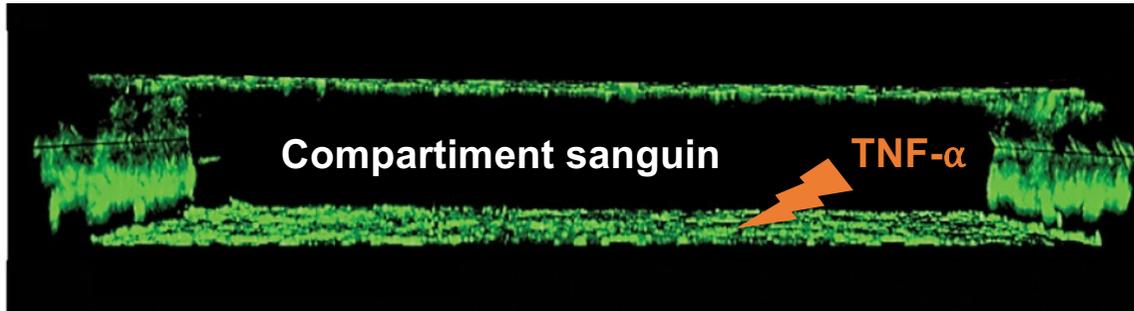
Microvaisseau **non traité**

Puis, perfusion de **sang total**

Détection des **plaquettes** avec Anti-CD41-PE



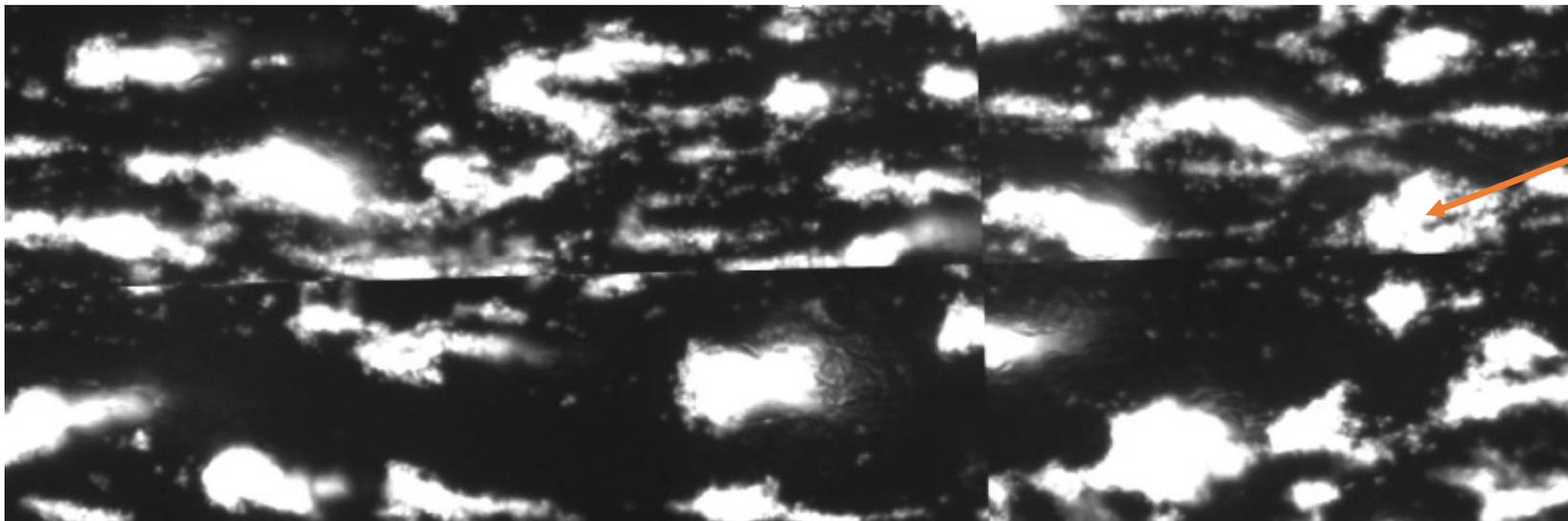
Modèle microfluidique de vaisseau sanguin



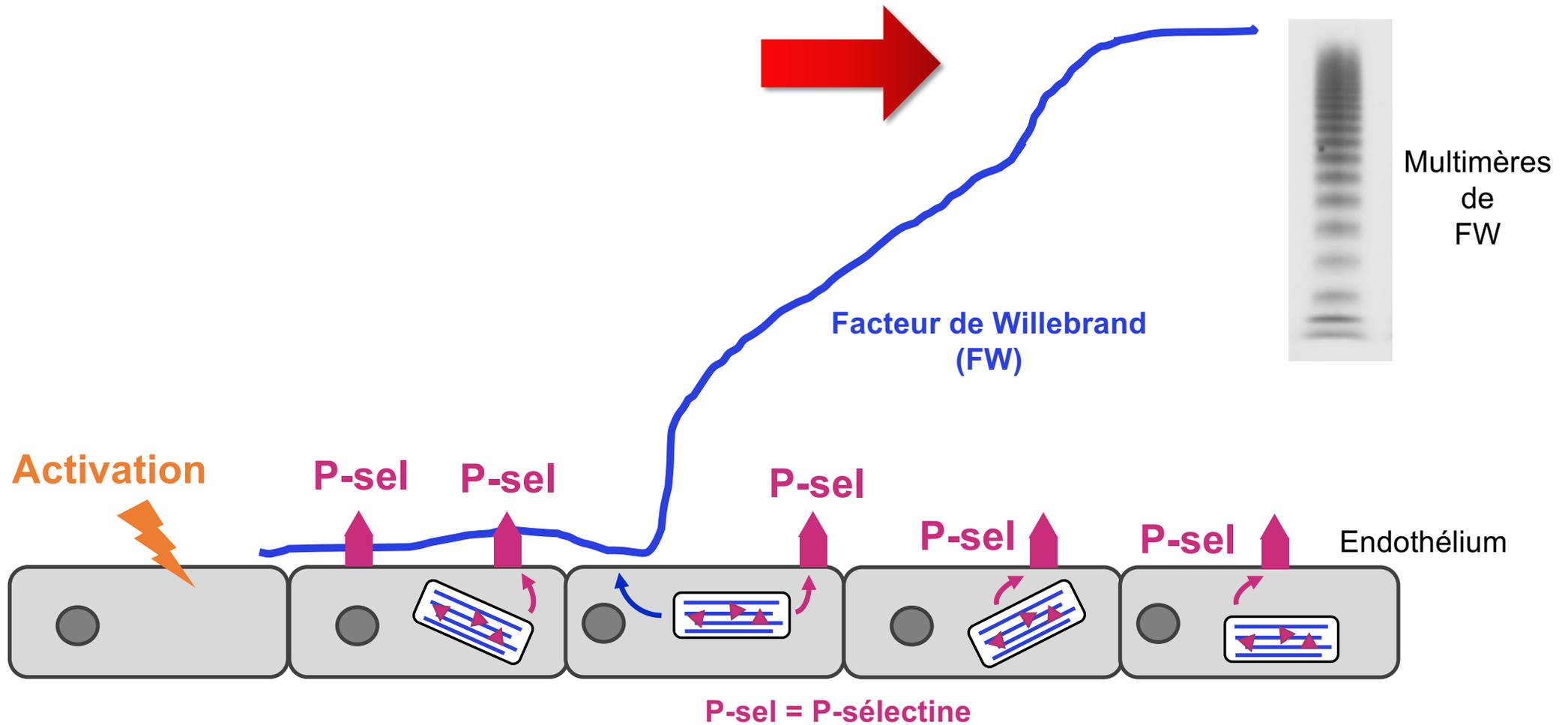
Microvaisseau traité au TNF- α (4 h)

Puis, perfusion de sang total

Détection des plaquettes avec Anti-CD41-PE

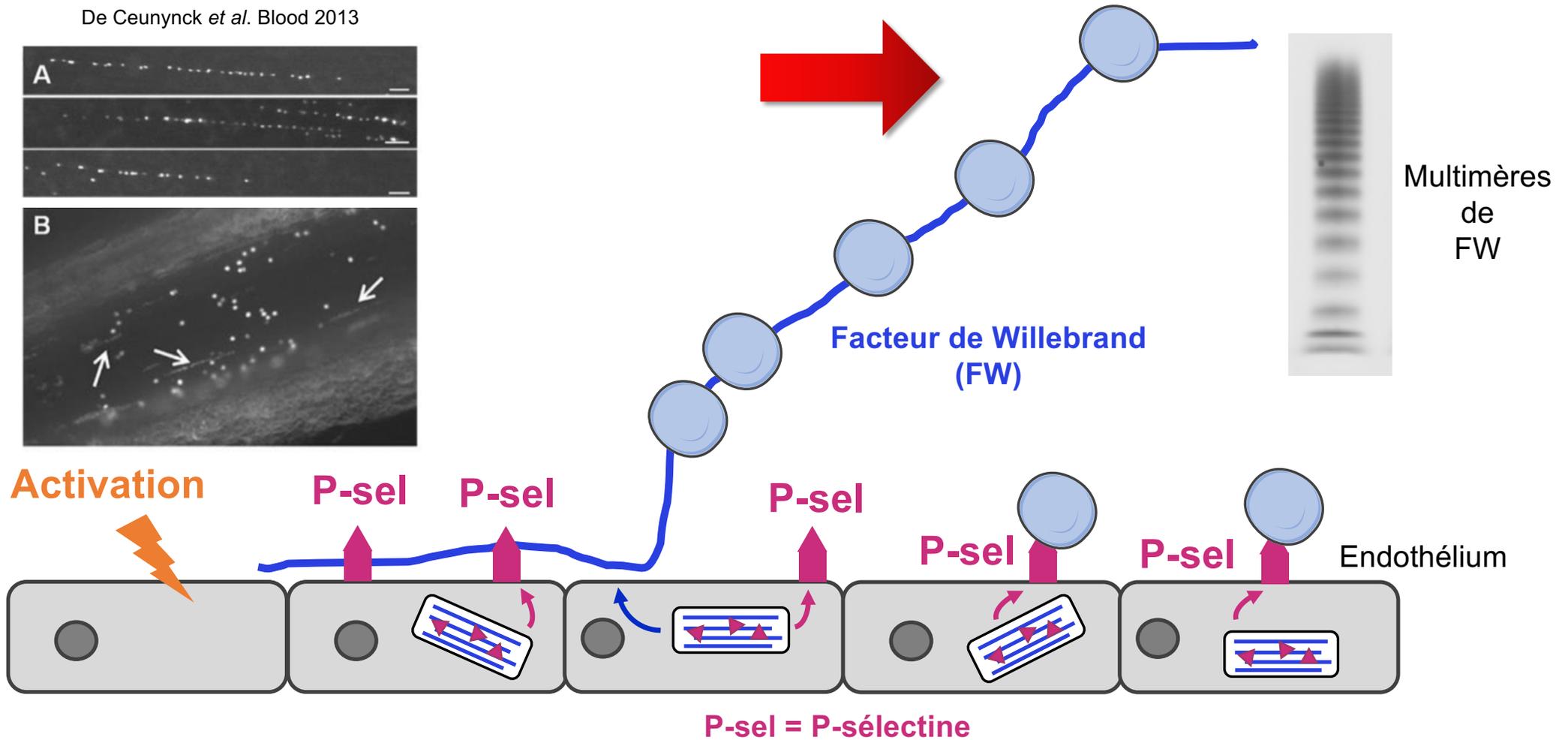


L'endothélium activé déclenche l'accumulation de plaquettes



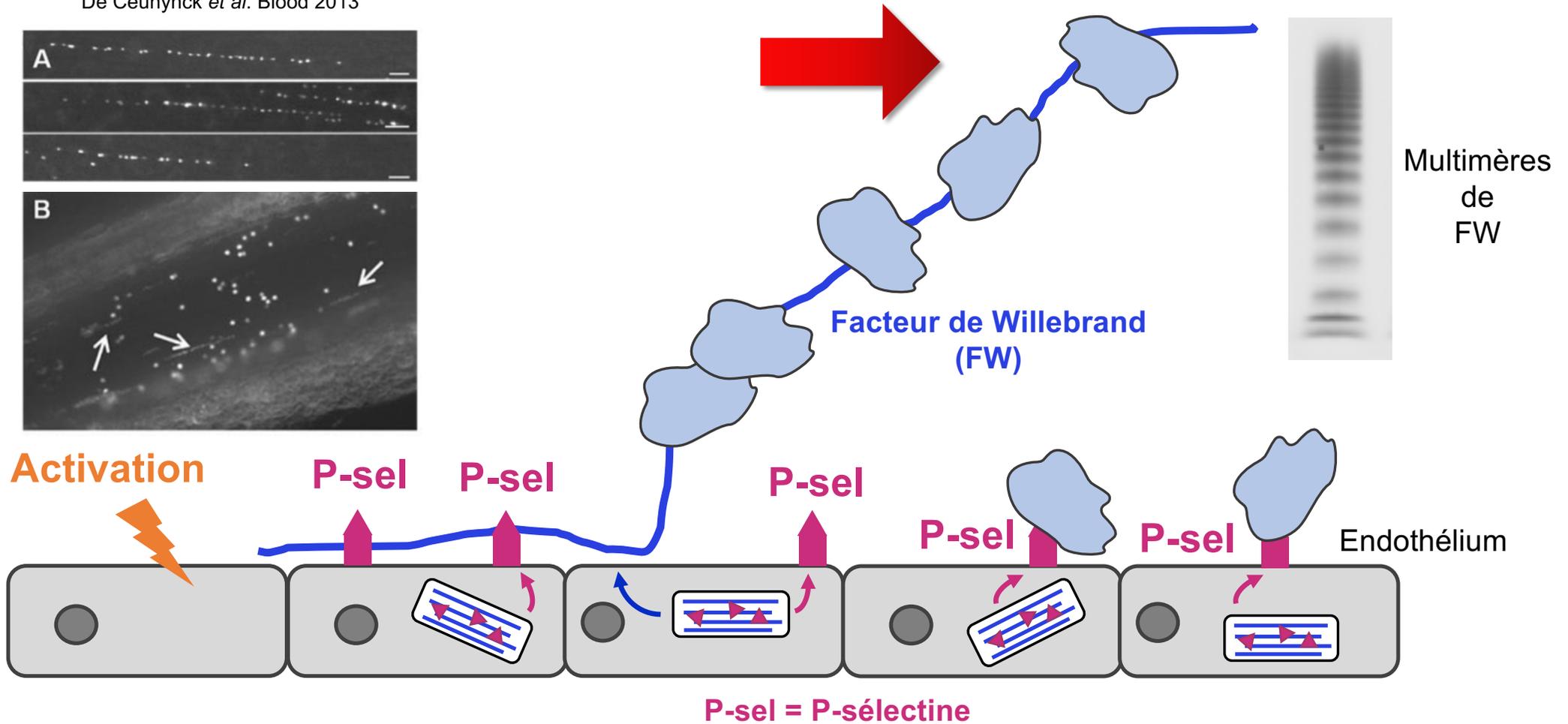
L'endothélium activé déclenche l'accumulation de plaquettes

De Ceunynck *et al.* Blood 2013



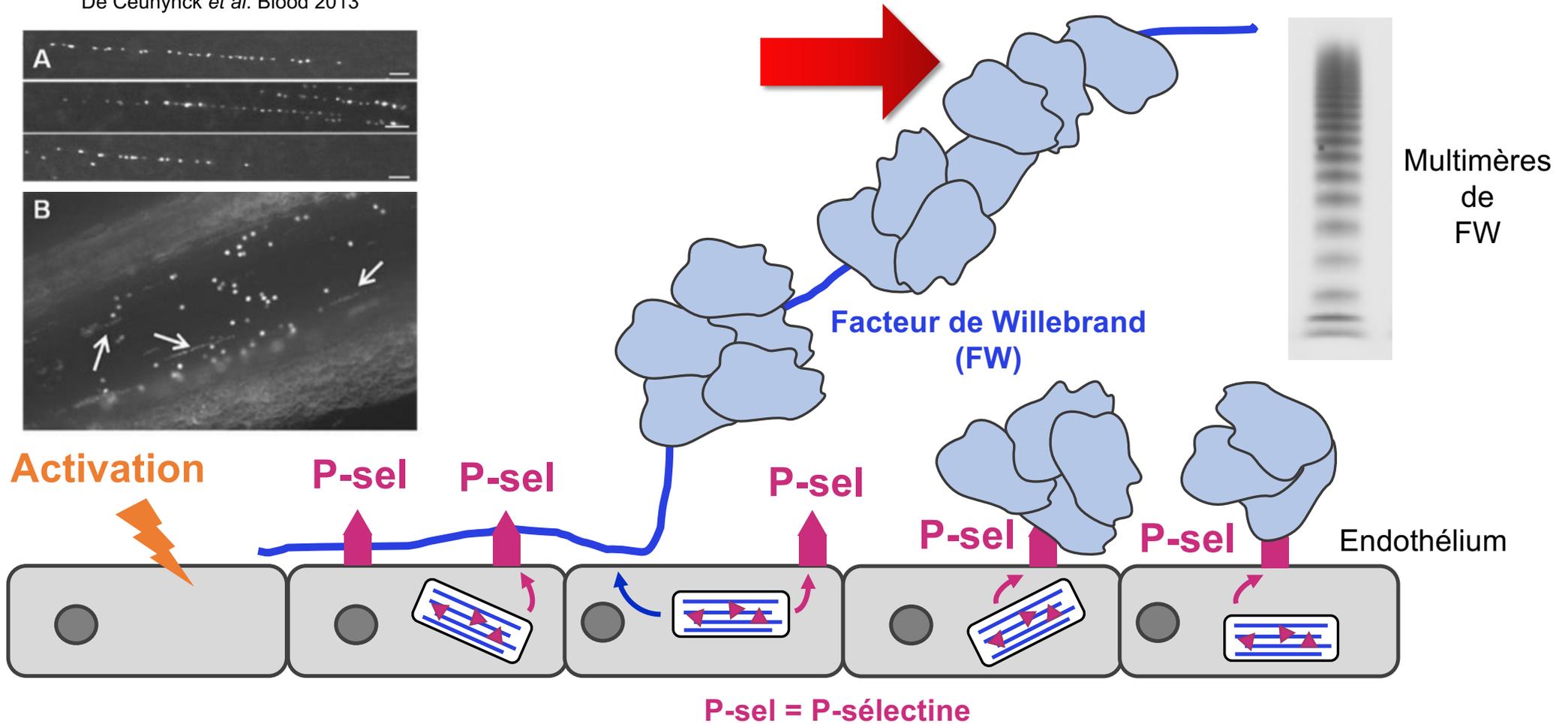
L'endothélium activé déclenche l'accumulation de plaquettes

De Ceunynck *et al.* Blood 2013

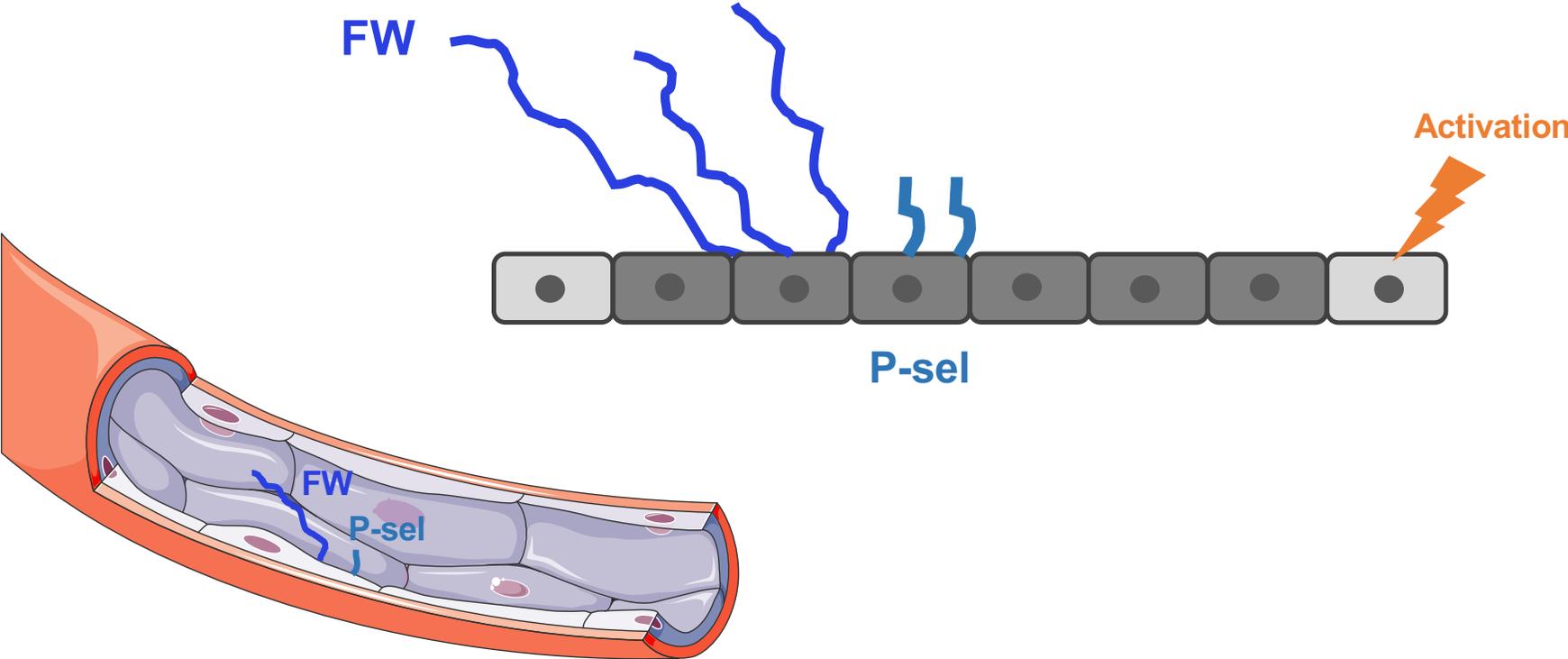


L'endothélium activé déclenche l'accumulation de plaquettes

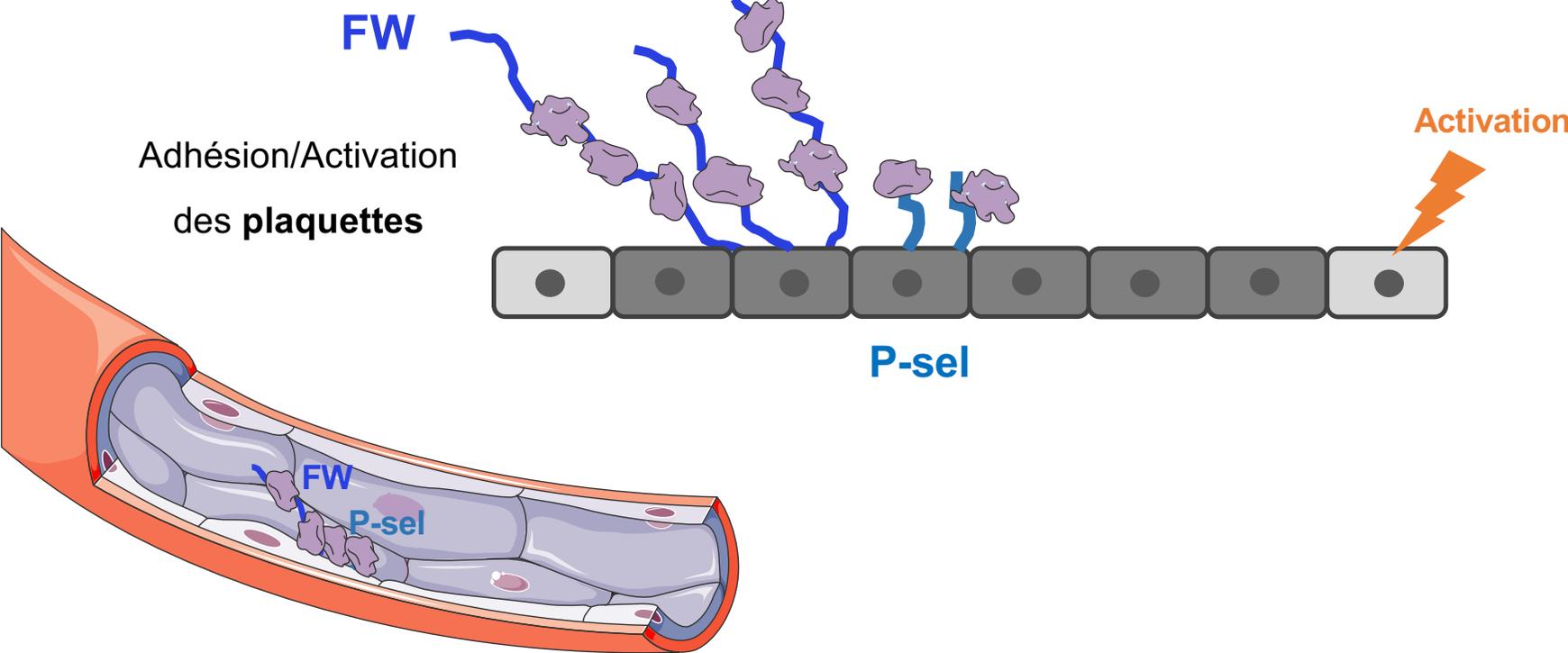
De Ceunynck *et al.* Blood 2013



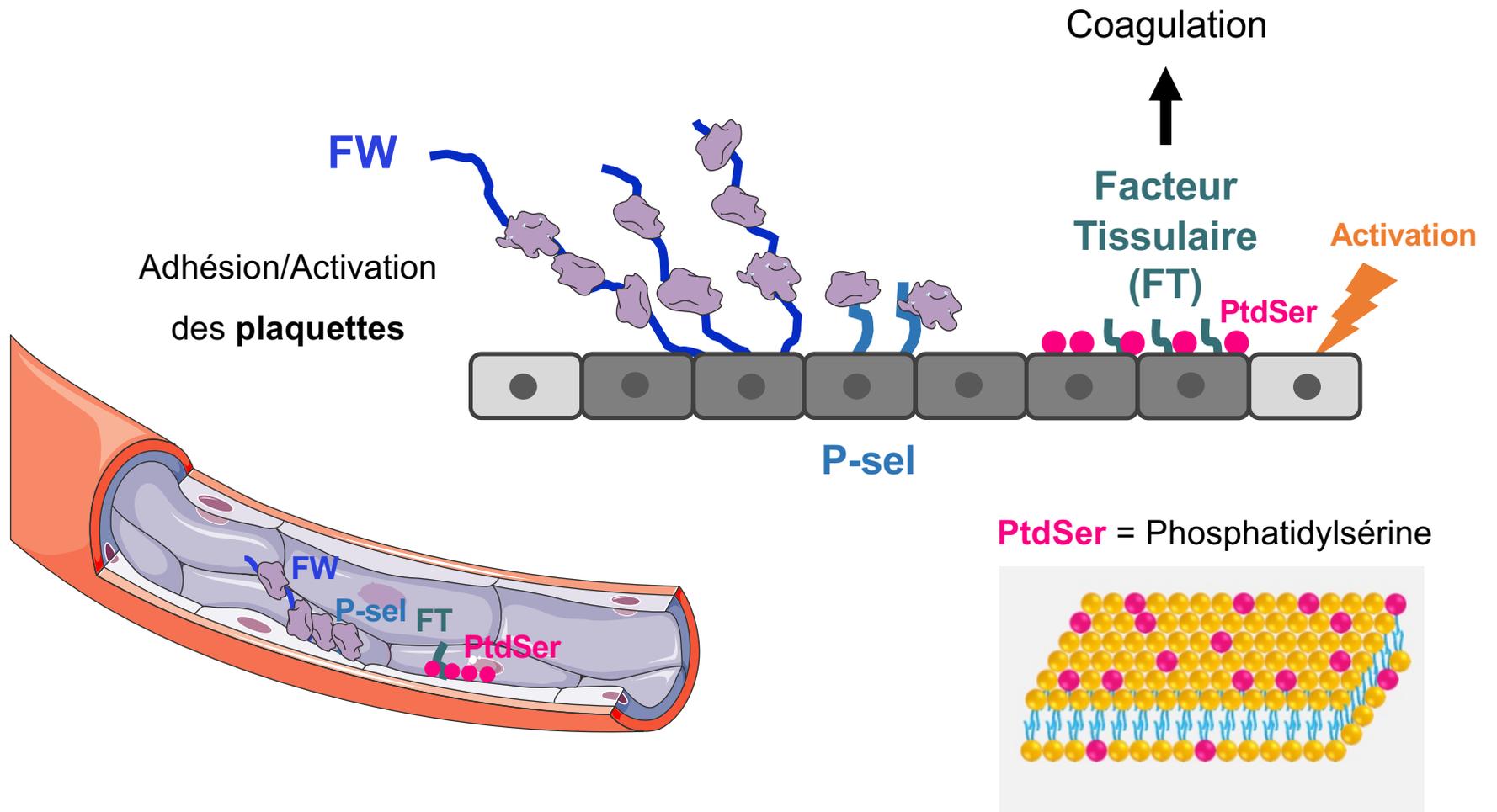
Formation d'un caillot à la surface d'un endothélium activé



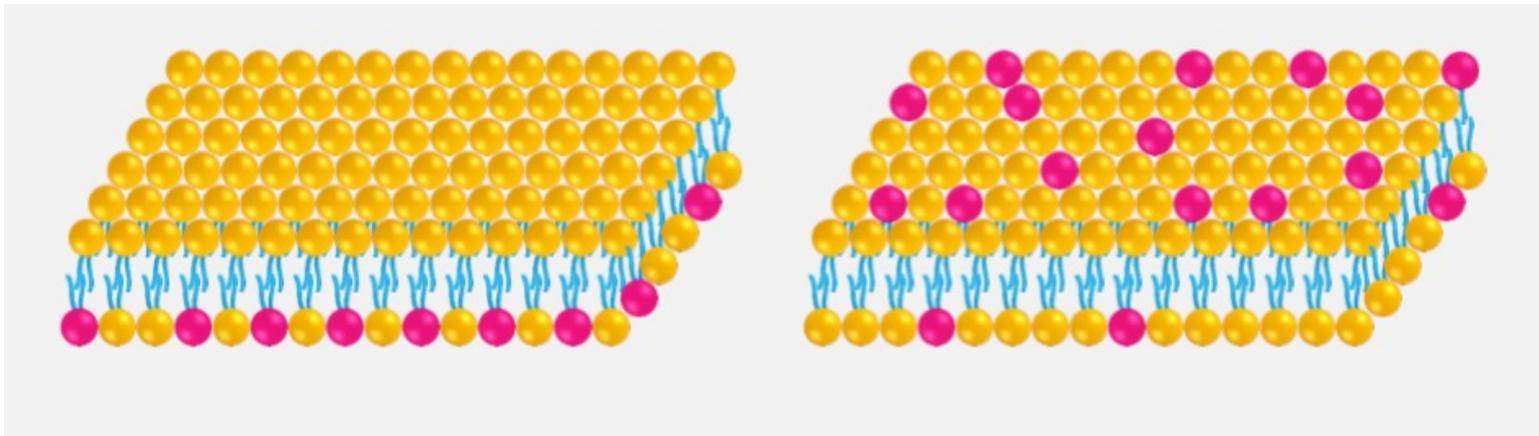
Formation d'un caillot à la surface d'un endothélium activé



Formation d'un caillot à la surface d'un endothélium activé



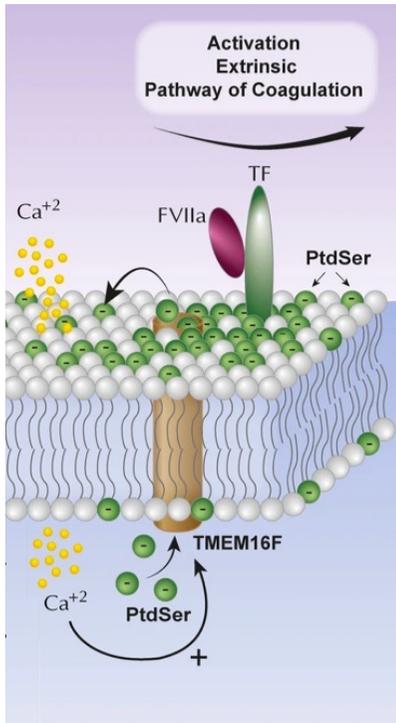
Exposition de Phosphatidylsérine (PtdSer) par les CEs



PtdCholine : phospholipide **neutre**

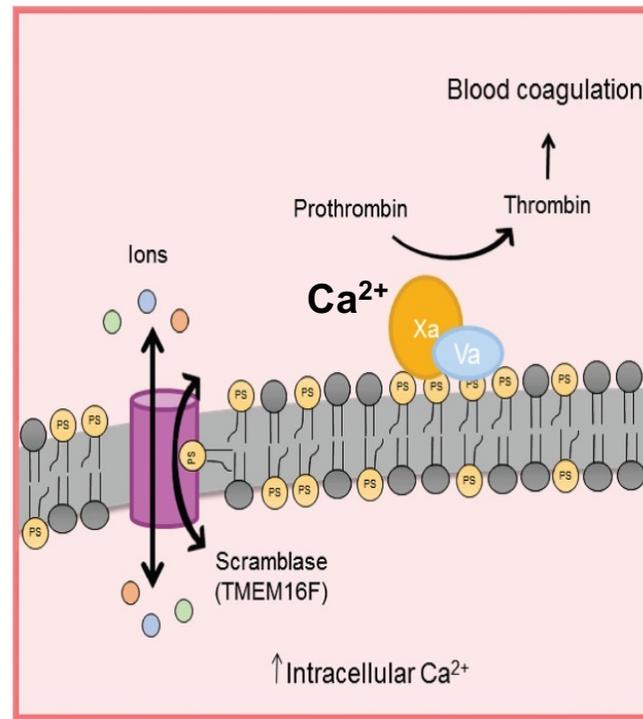
PtdSerine : phospholipide **chargé négativement**

Effets procoagulants de l'exposition de PtdSer



Activation du FT
(Stimule l'Initiation de
la Coagulation

+

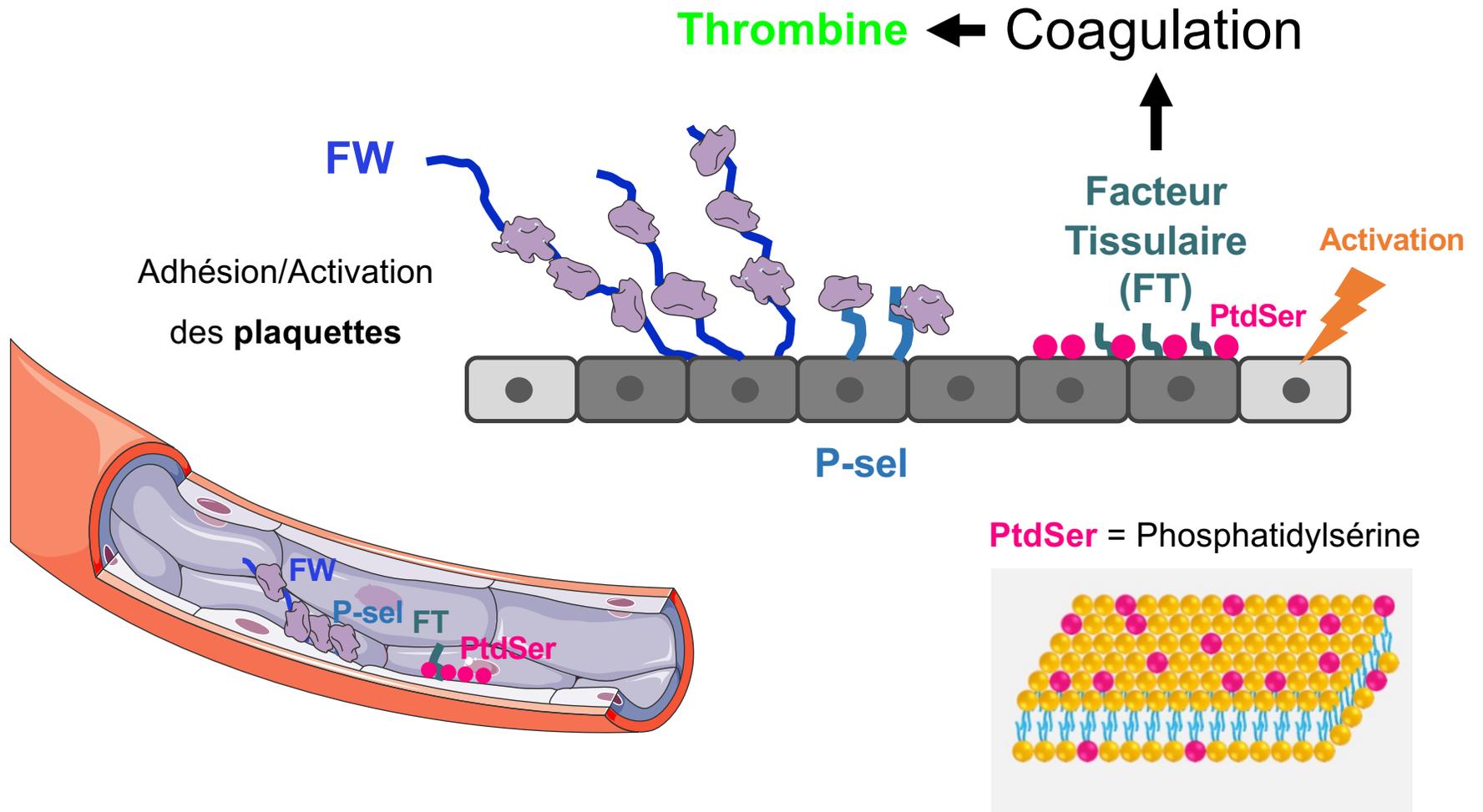


Accélération des réactions
de la coagulation

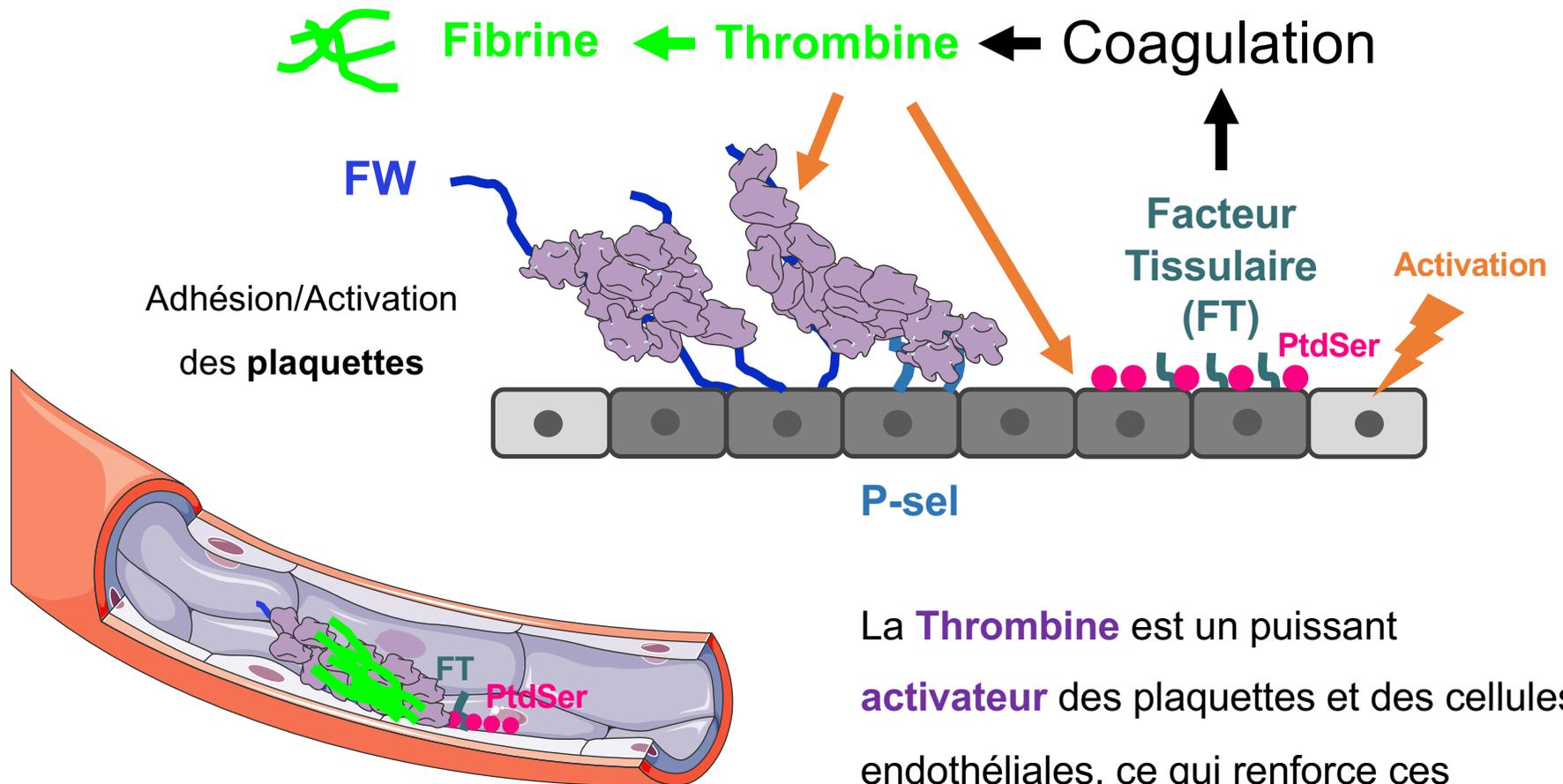
=

**Stimulation de la
Coagulation
+++**

Formation d'un caillot à la surface d'un endothélium activé



Formation d'un caillot à la surface d'un endothélium activé



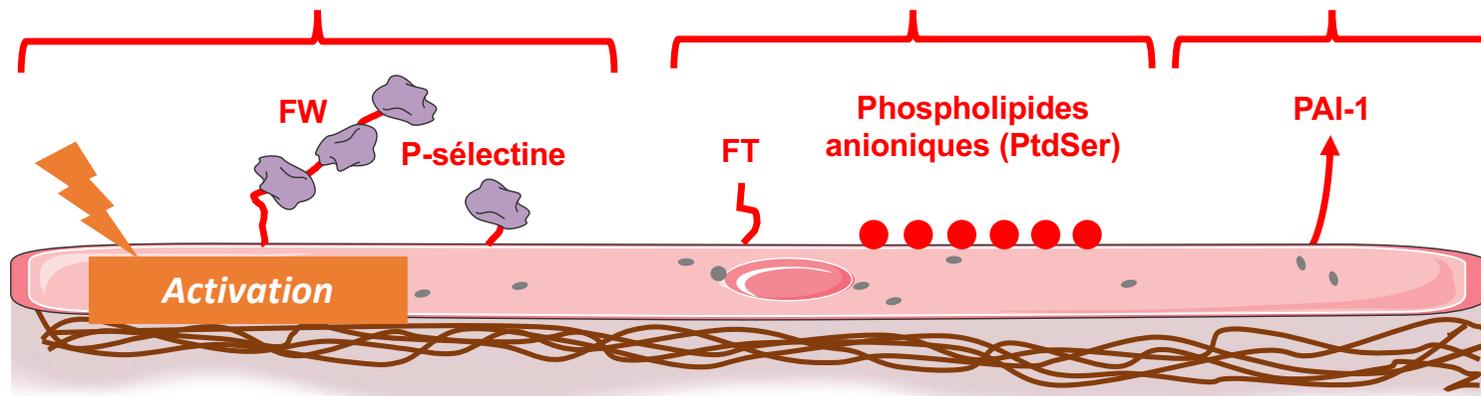
La **Thrombine** est un puissant **activateur** des plaquettes et des cellules endothéliales, ce qui renforce ces phénomènes

L'endothélium activé est **thrombogène**

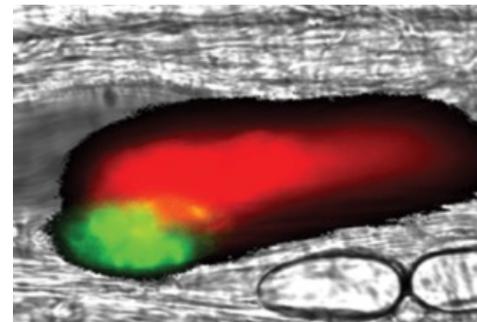
Stimulation de l'adhérence et de l'activation plaquettaires

Stimulation de la Coagulation

Inhibition de la Fibrinolyse

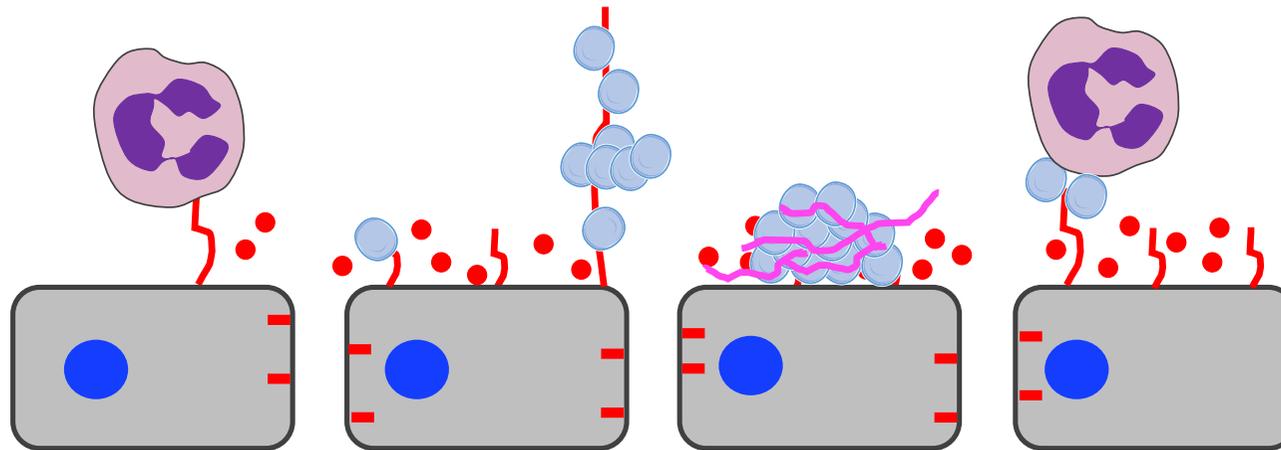


In vitro



In vivo

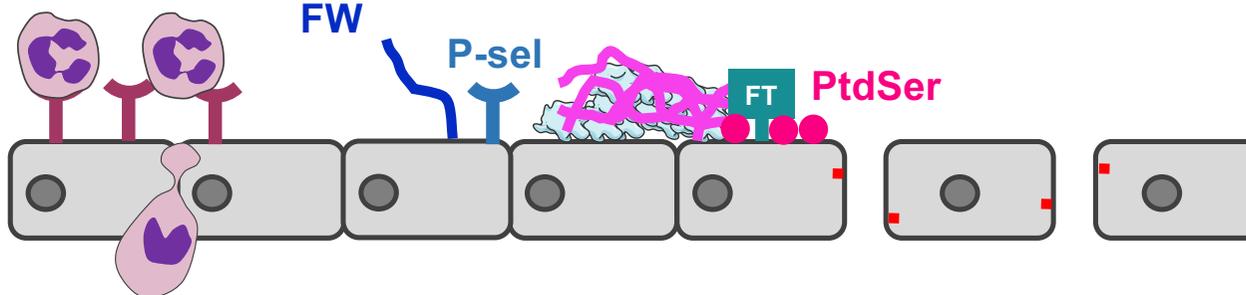
Caractéristiques générales d'un endothélium **activé**



Un endothélium
activé
est

Pro-Inflammatoire
Prothrombotique
Perméable

Molécules
d'adhésion
E-sélectine
ICAM-1
VCAM-1



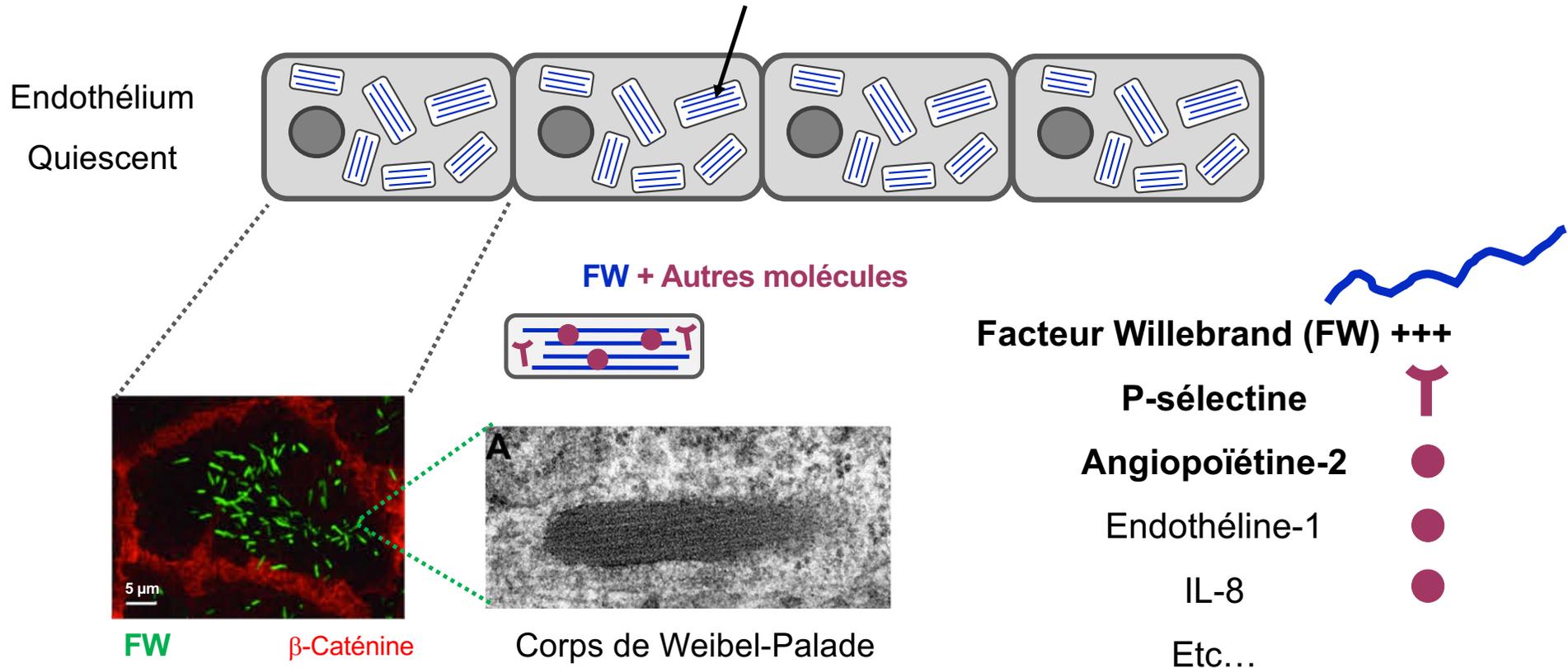
Inflammation

Thrombose

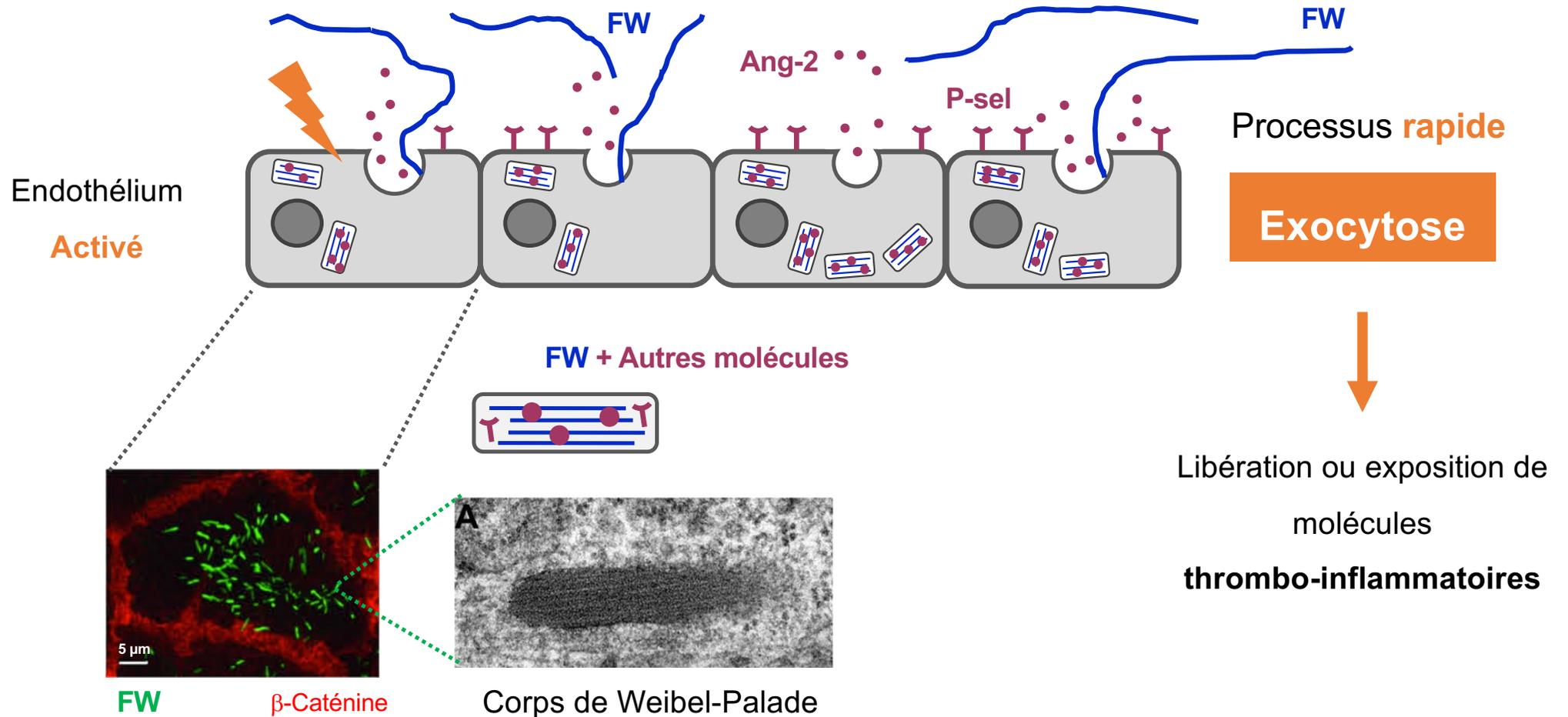
Perméabilité

Réactivité +++ de l'endothélium vasculaire

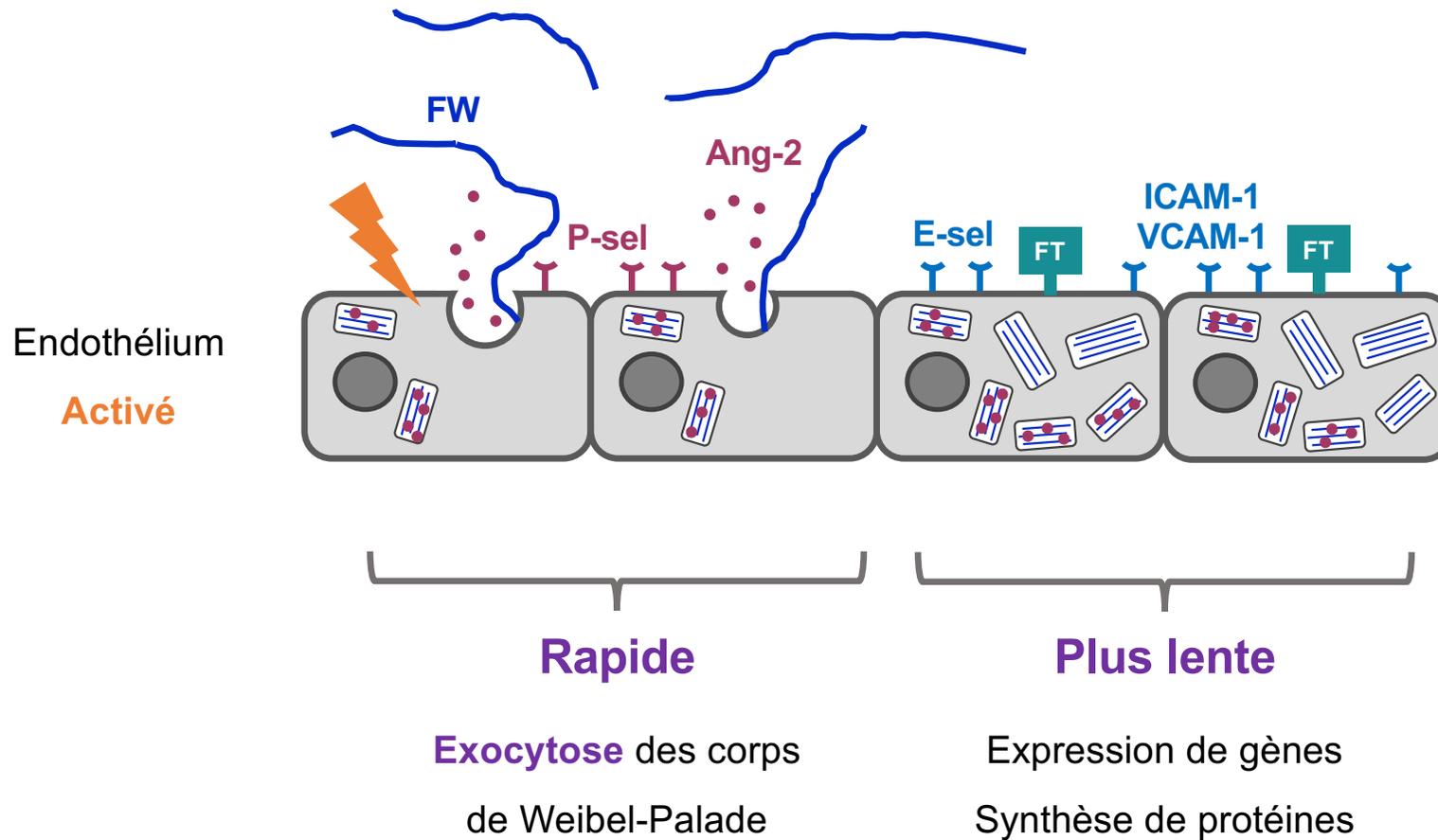
Corps de Weibel-Palade = Granule de stockage et de **sécrétion**



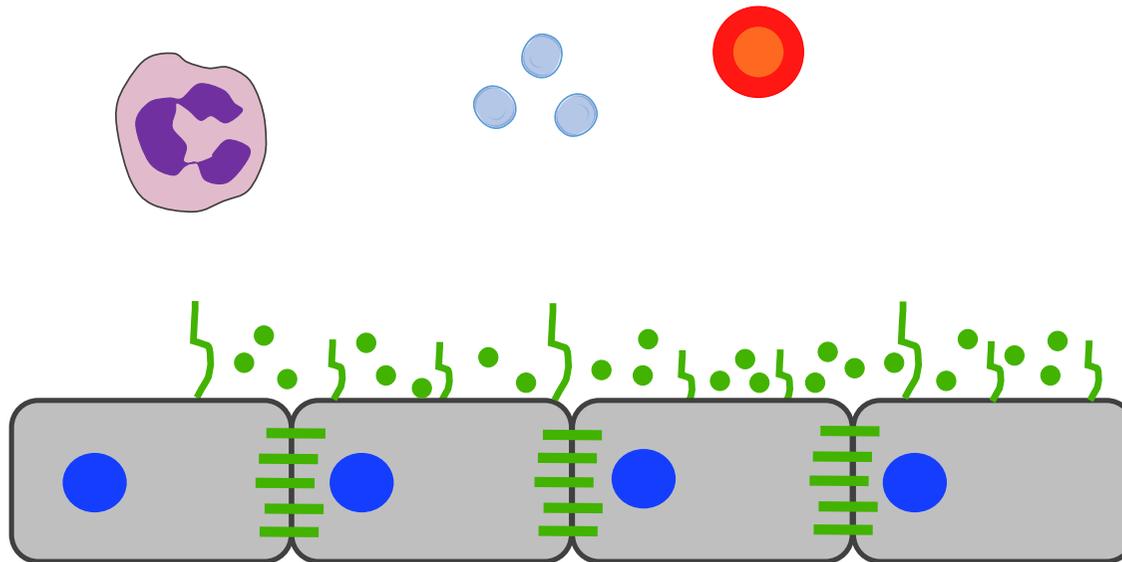
Réactivité +++ de l'endothélium vasculaire



Activation endothéliale



Endothélium « quiescent »



Un endothélium

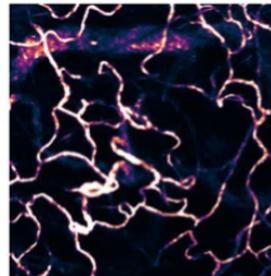
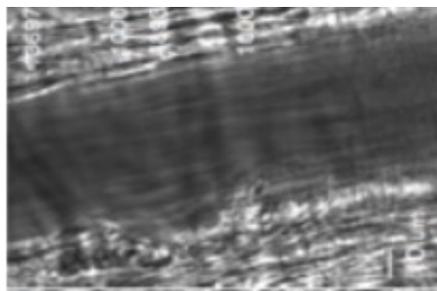
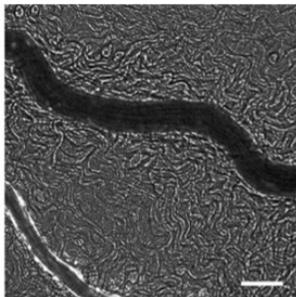
quiescent

est naturellement :

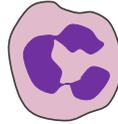
Anti-Inflammatoire

Antithrombotique

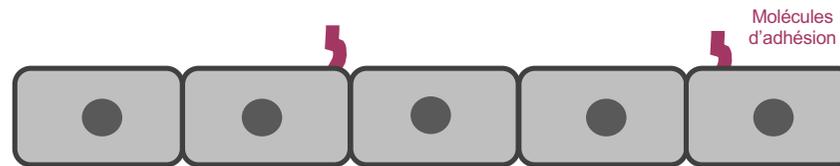
Semi-Perméable



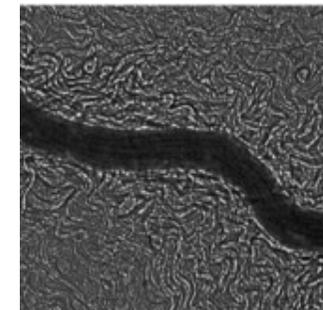
L'endothélium est naturellement **anti-inflammatoire**



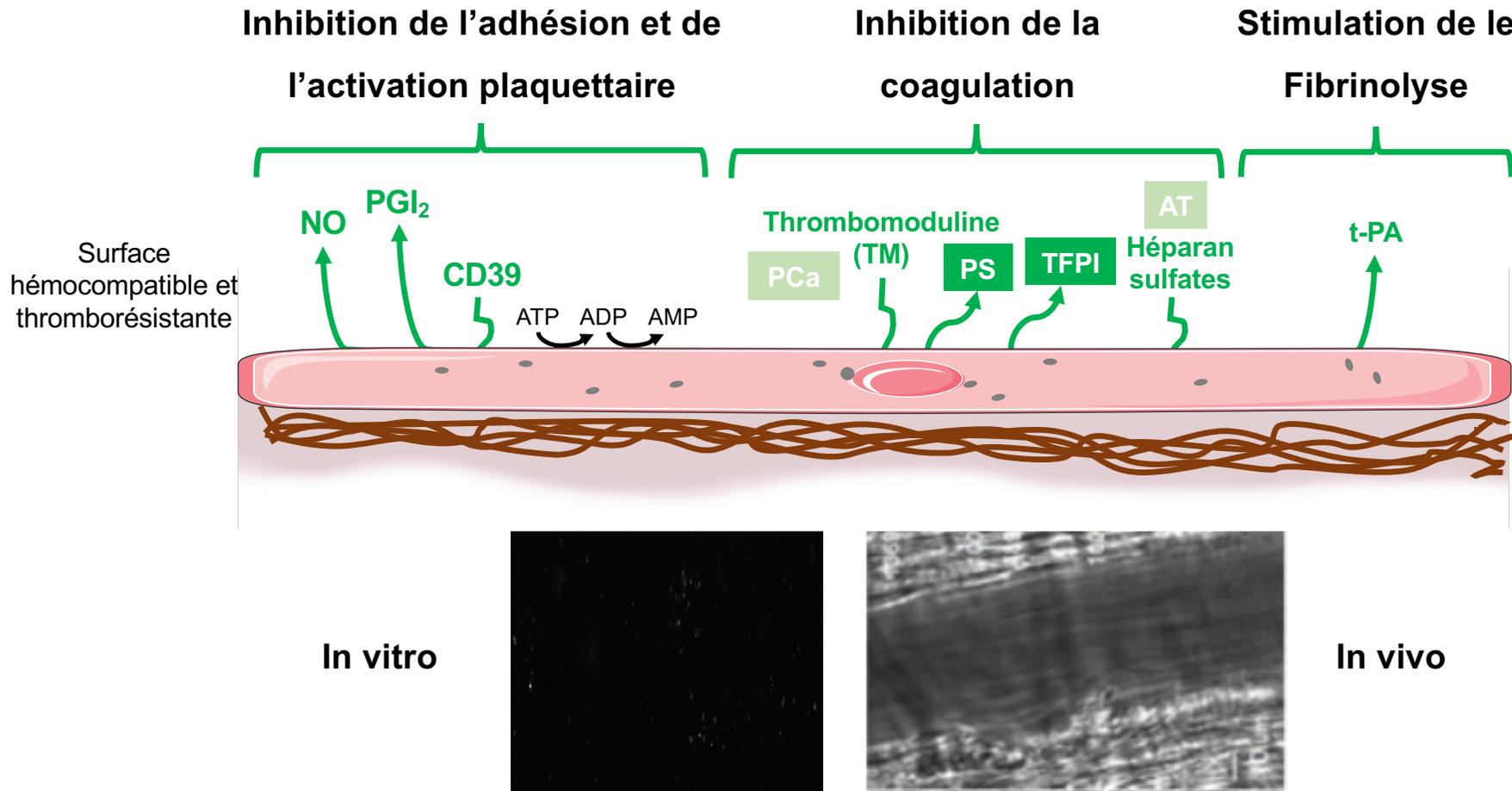
Pas ou très peu d'expression
des **molécules d'adhésion**
par un endothélium quiescent
(non activé)



Anti-Inflammatoire



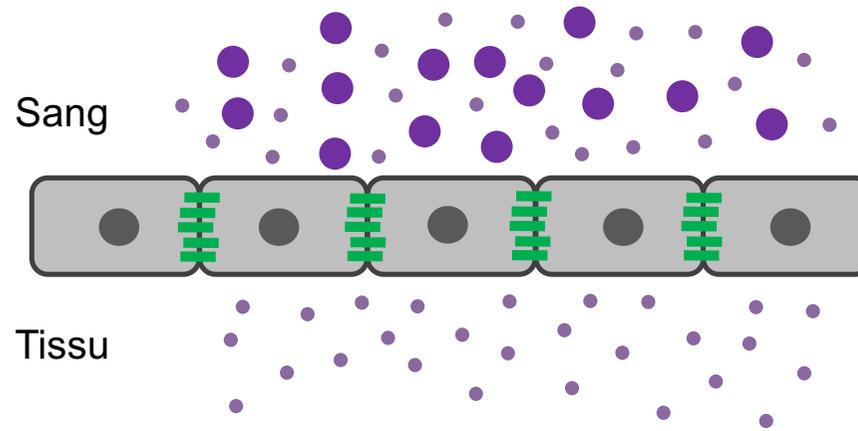
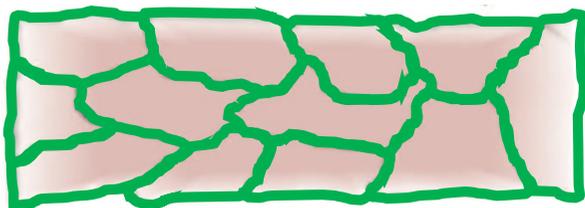
L'endothélium est naturellement **antithrombotique**



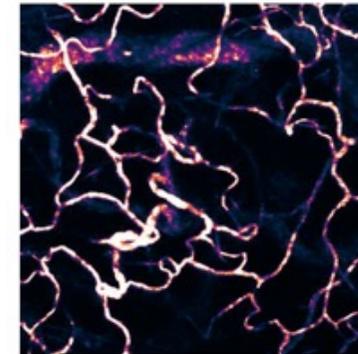
L'endothélium est naturellement **semi-perméable**

Expression des protéines de jonctions endothéliales

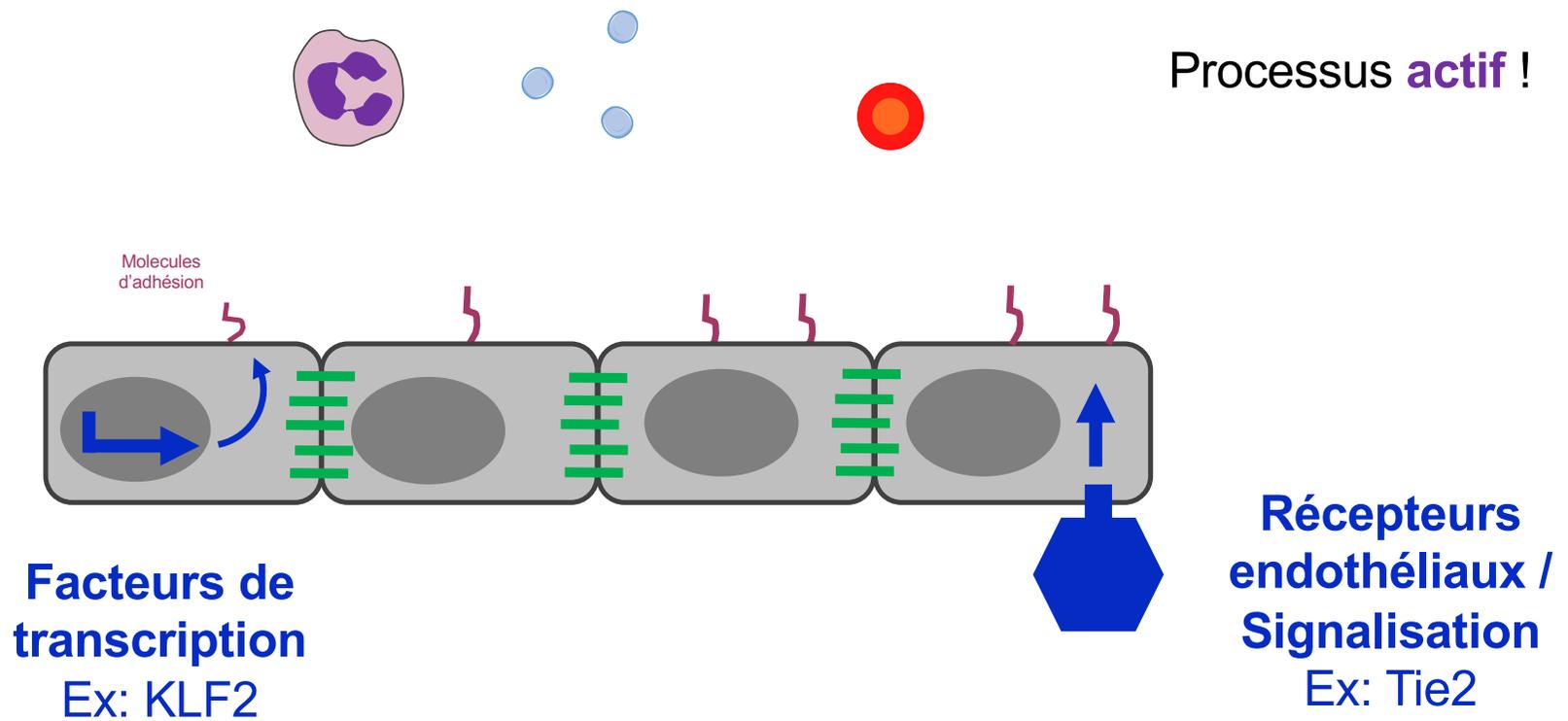
Maintien de ces jonctions



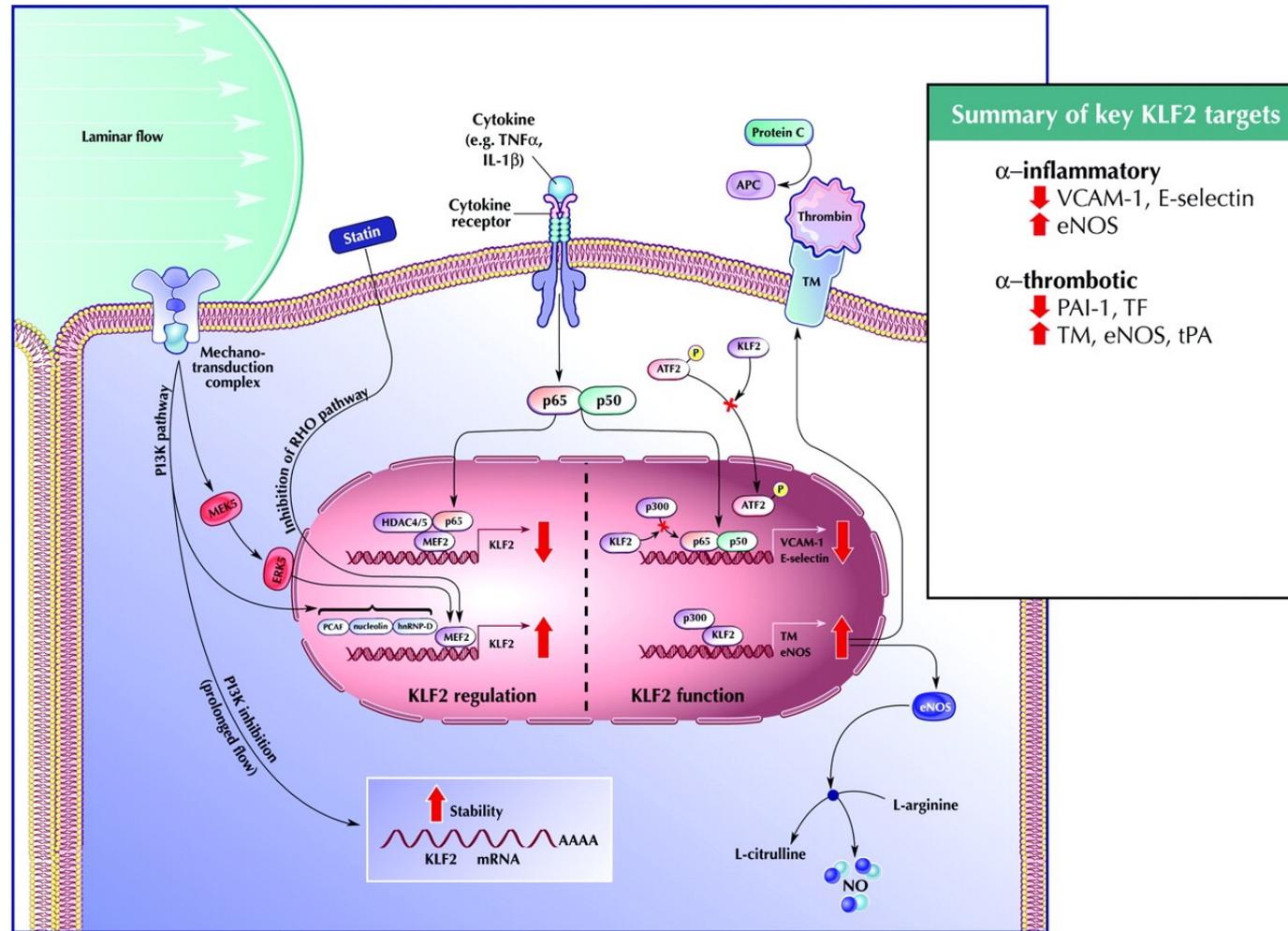
Semi-Perméable



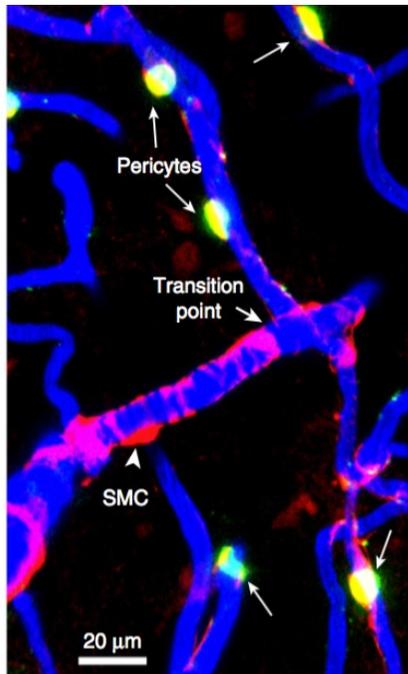
Comment maintenir un état **quiescent** de l'endothélium ?



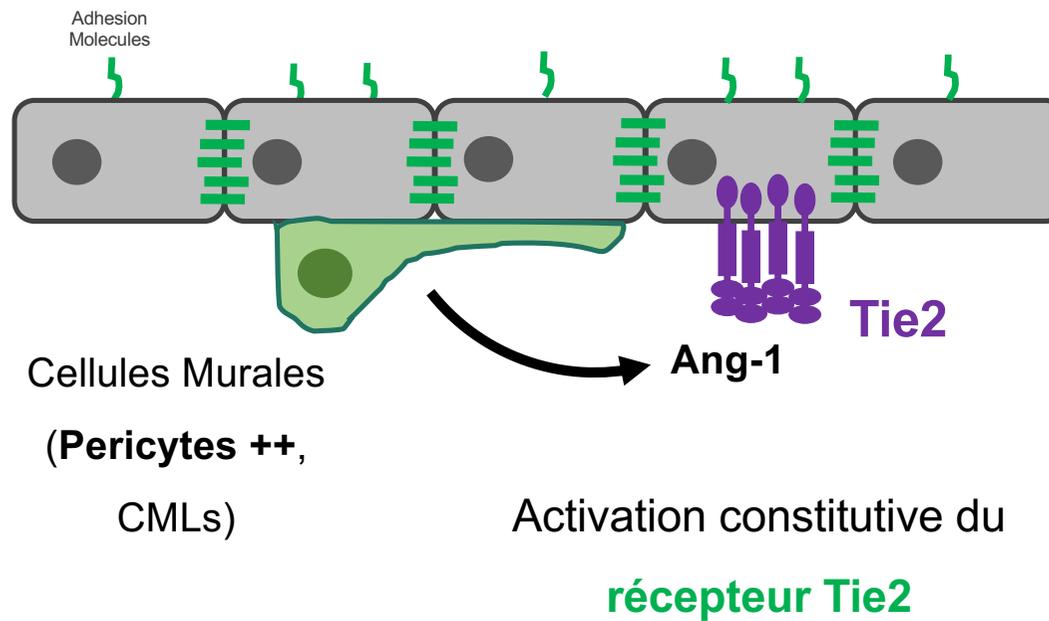
Exemple de facteur de transcription : KLF2



Comment maintenir un état **quiescent** de l'endothélium ?



Un exemple de **récepteur/signalisation**
assurant la quiescence endothéliale



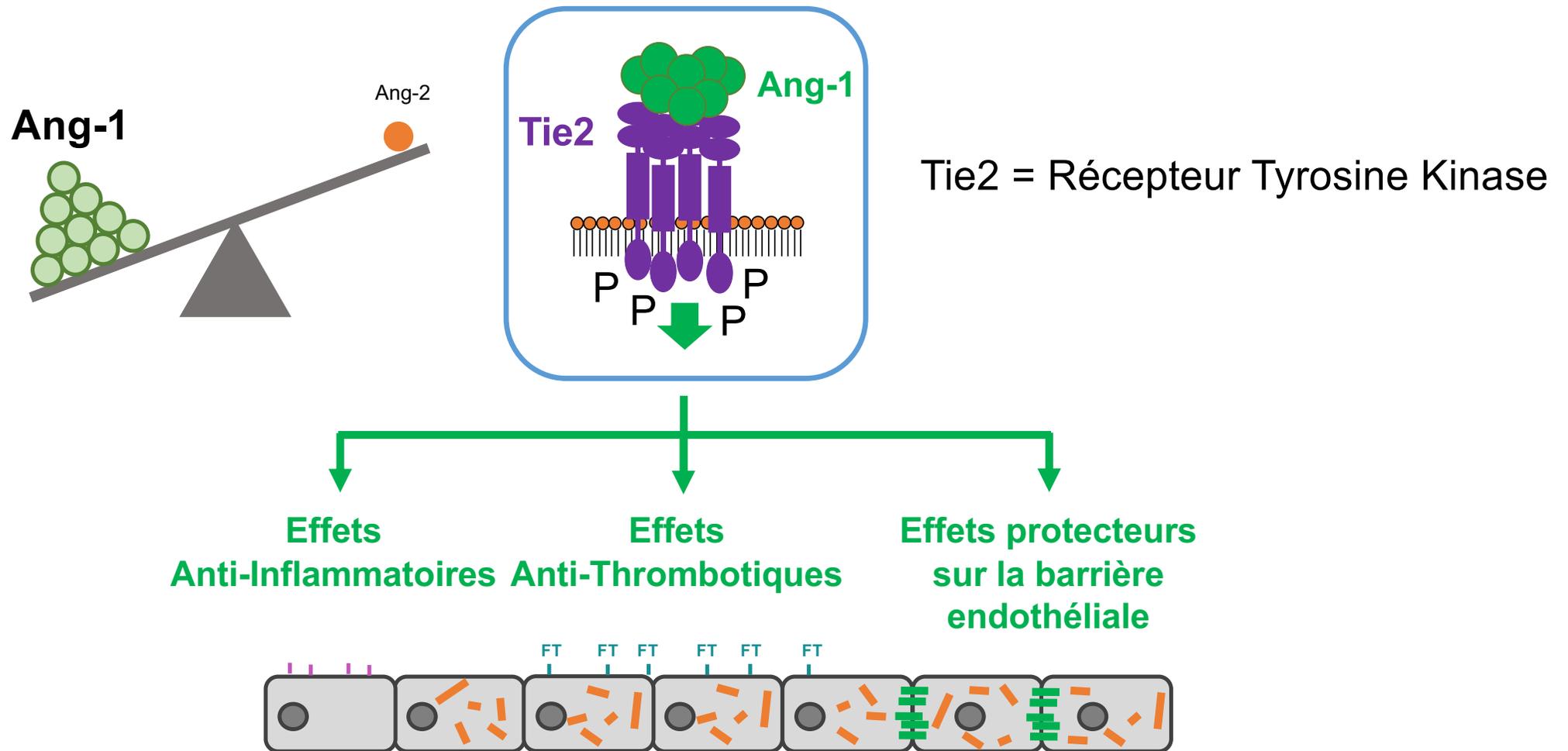
**Endothélium
Quiescent**

Anti-inflammatoire

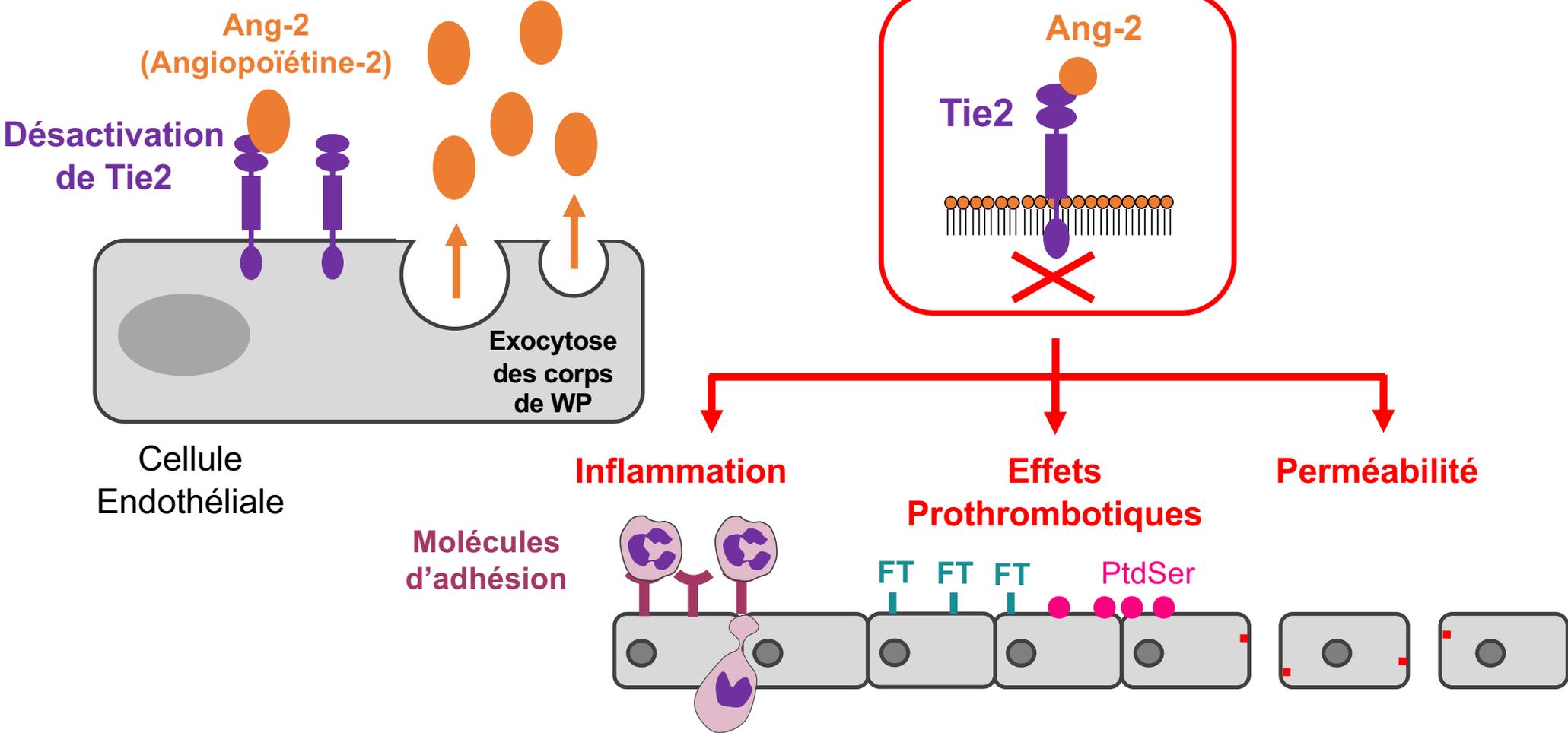
Antithrombotique

Semi-perméable

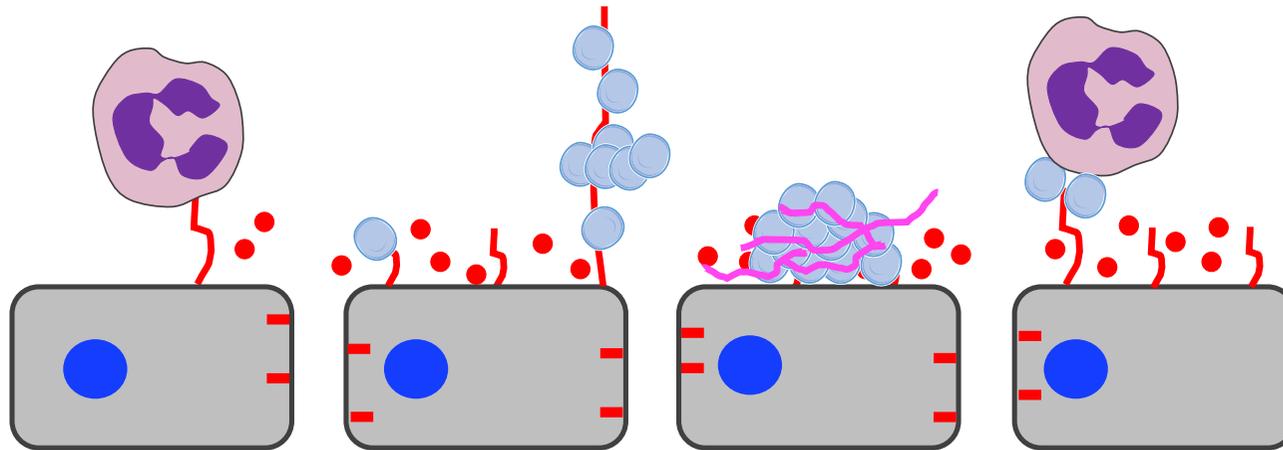
La signalisation Tie2 induit la quiescence endothéliale



Dérégulation de la signalisation Tie2 par l'Angiopoïétine-2



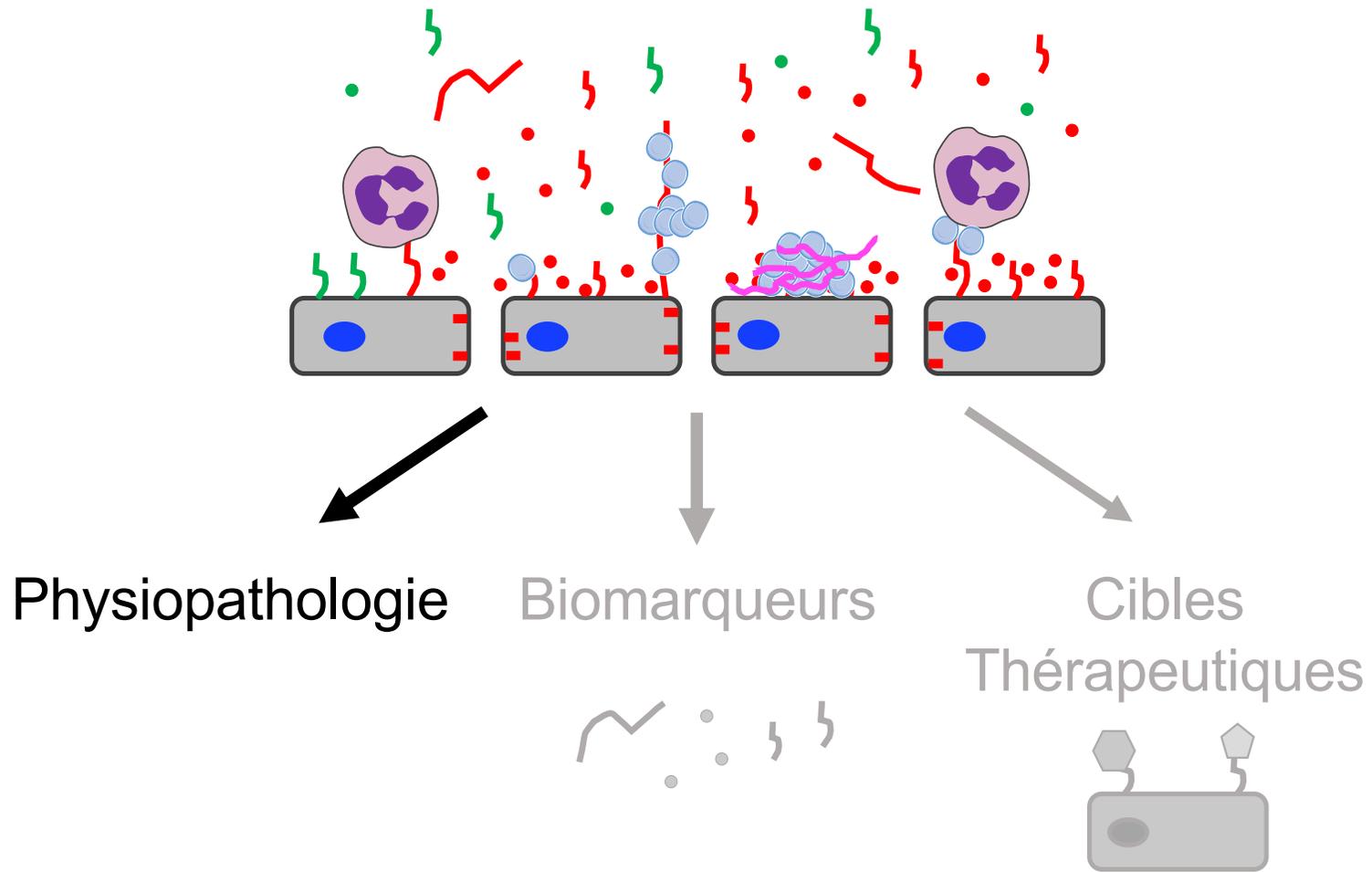
Conséquences pathologiques de la dysfonction endothéliale



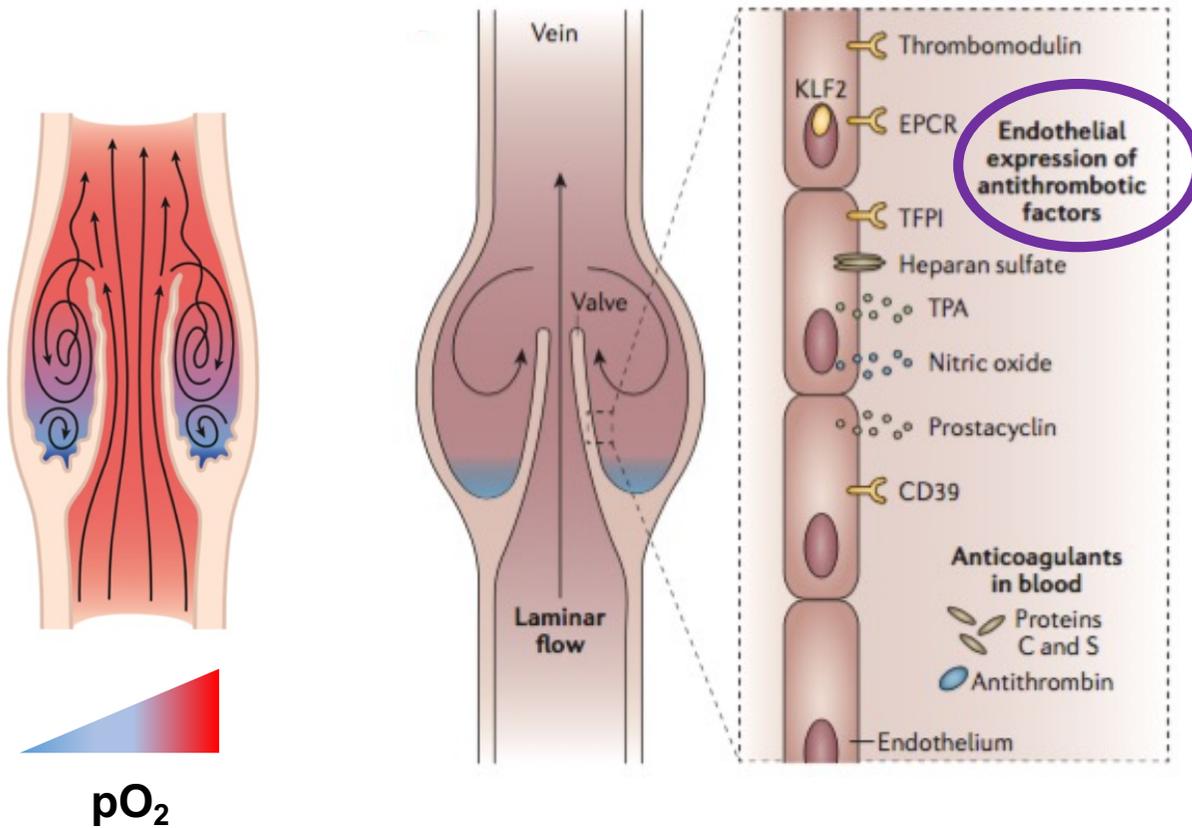
Aggrave ou déclenche
des **pathologies**
multiples

Sepsis, AVC ischémiques
Drépanocytose, Dengue sévère
Méningococcémie, Paludisme
Athérosclérose, Hypertension
COVID et COVID Long
Etc... Etc...

Importance de la dysfonction endothéliale



Physiopathologie de la thrombose veineuse



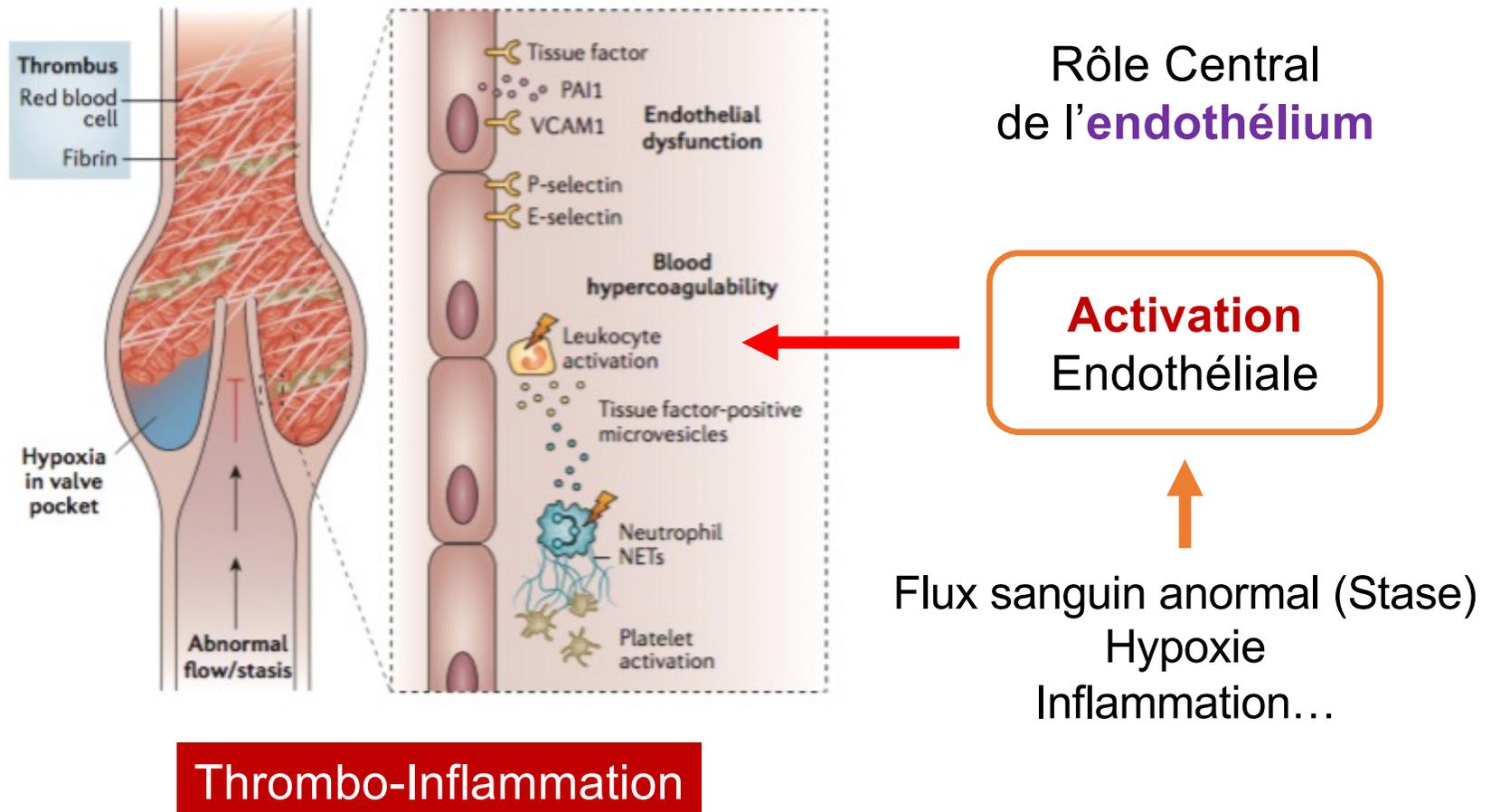
Rôle Central
de l'**endothélium**

Au niveau des valves,
l'endothélium doit absolument être
naturellement « **protégé** »

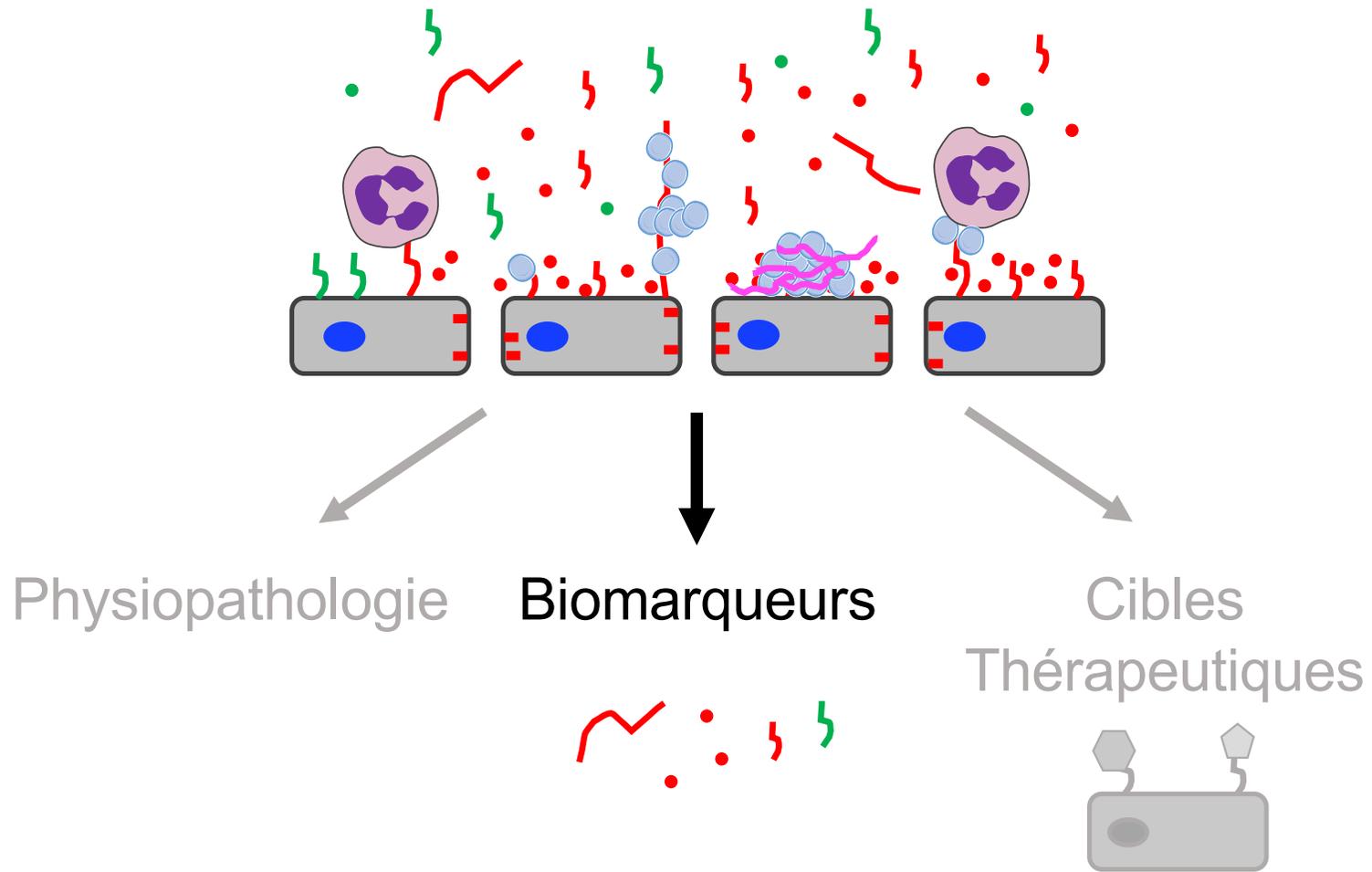


Endothélium
« **Thromborésistant** »

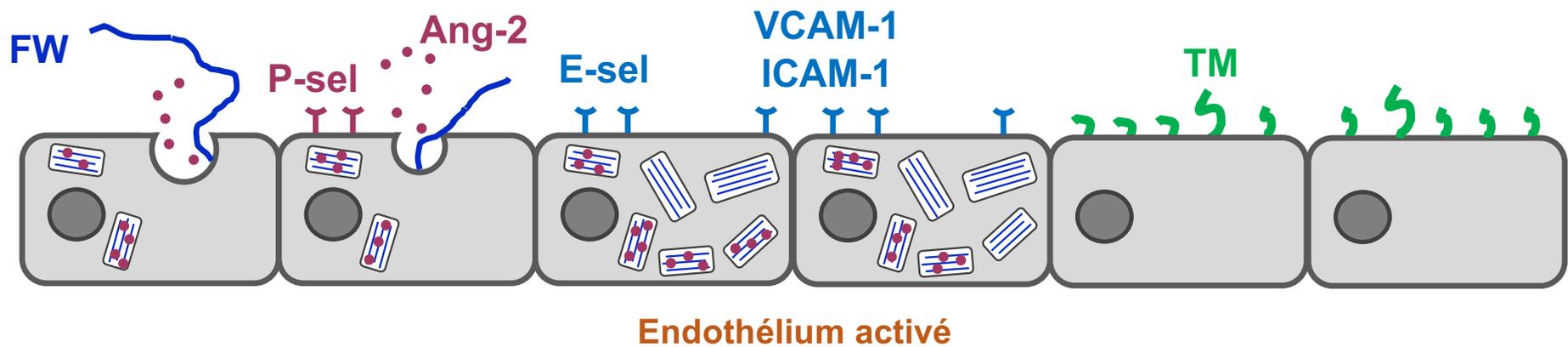
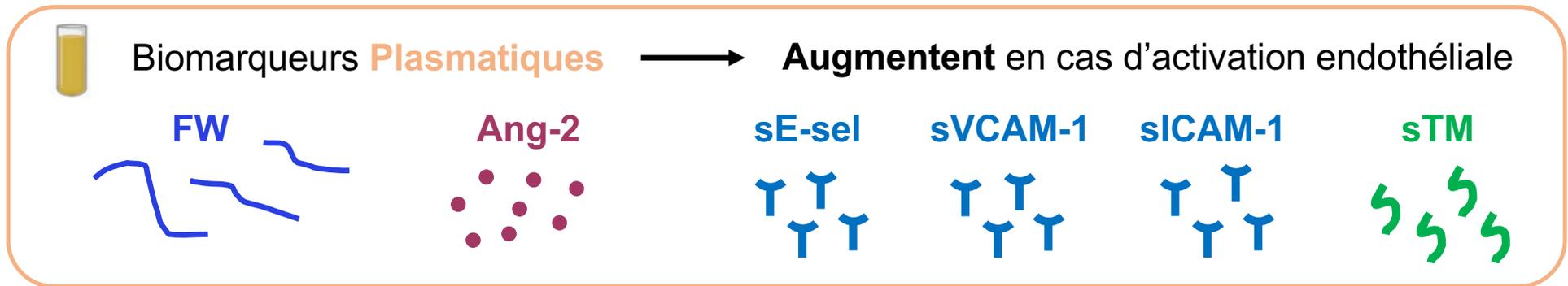
Physiopathologie de la thrombose veineuse



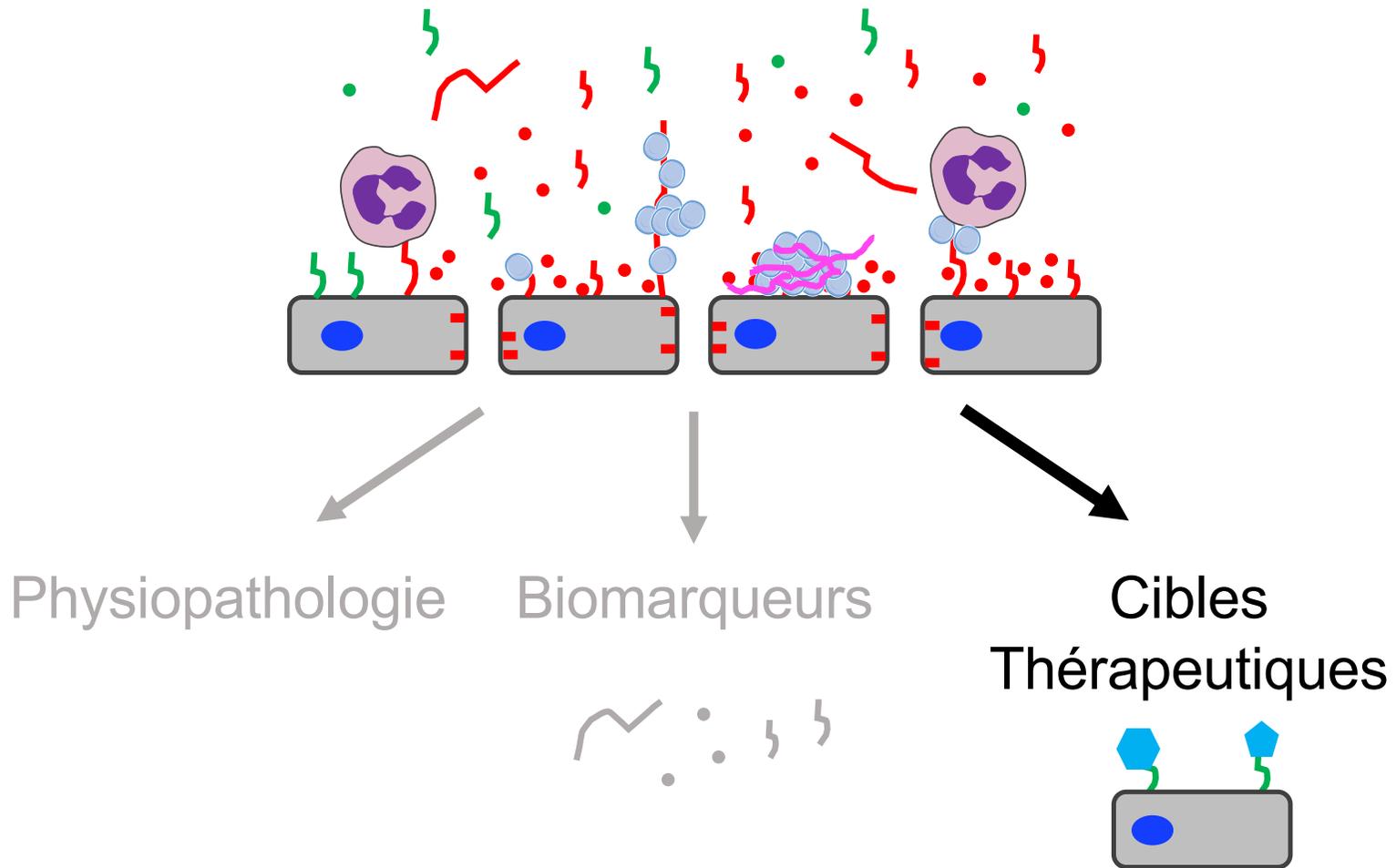
Importance de la dysfonction endothéliale



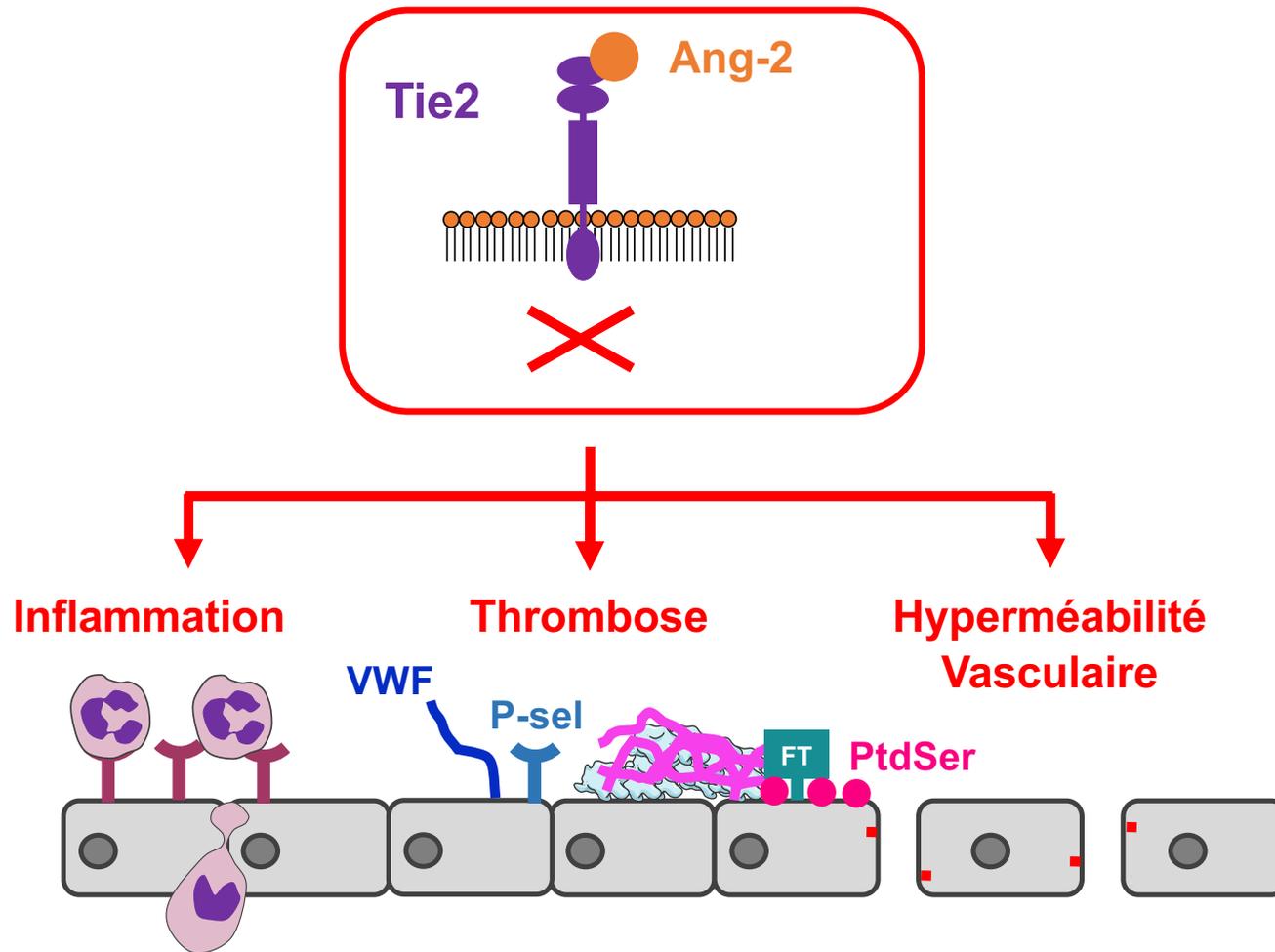
Biomarqueurs de l'activation endothéliale



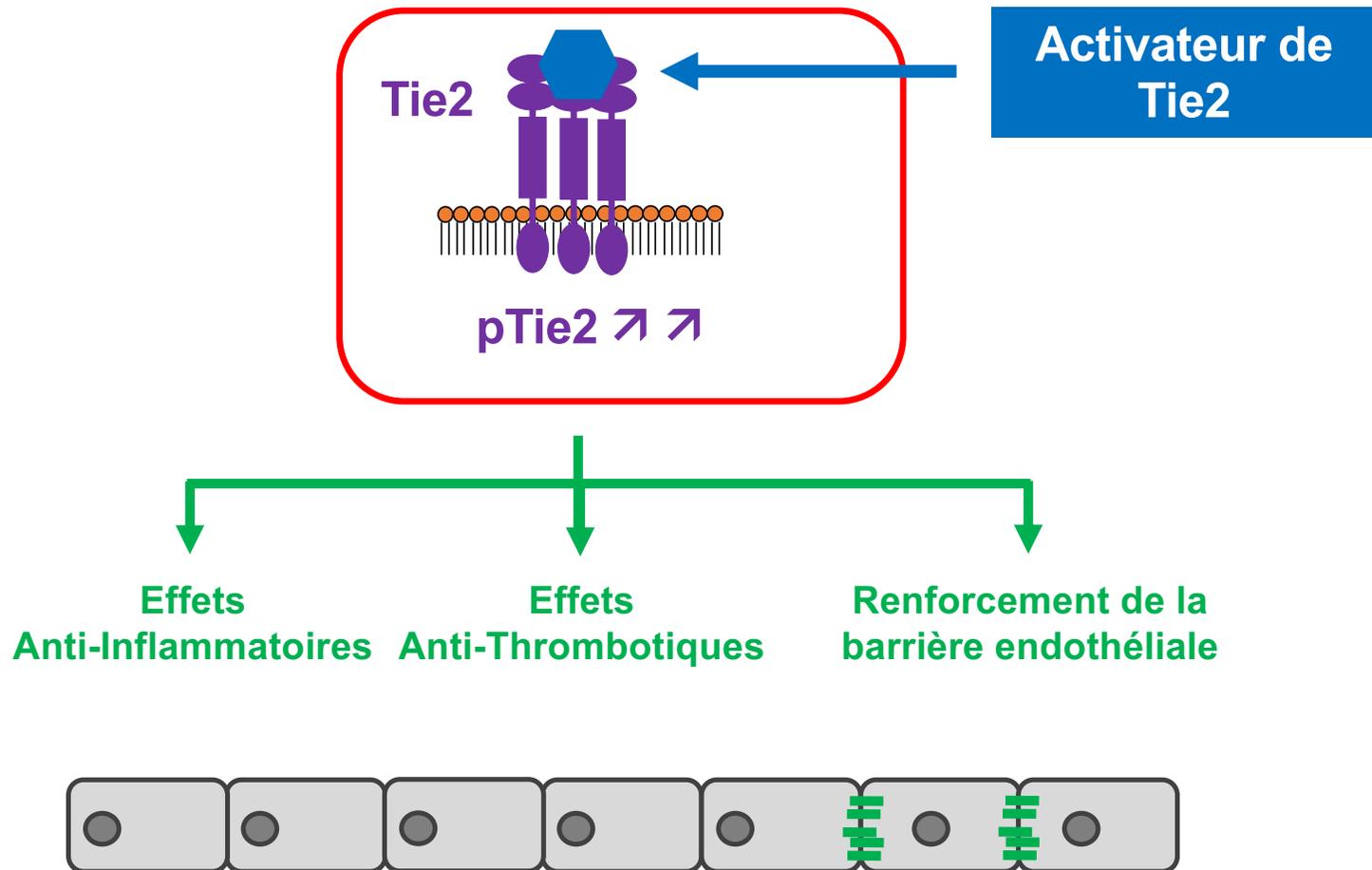
Importance de la dysfonction endothéliale



Le récepteur endothélial Tie2 est une cible thérapeutique



Activation pharmacologique du récepteur endothélial Tie2



Messages à retenir

Un endothélium quiescent est naturellement **semi-perméable**, pour restreindre le passage de molécules à travers l'endothélium

La semi-perméabilité est conférée en grande partie par l'établissement des **jonctions inter-endothéliales**

Une **activation endothéliale** physiologique, notamment par des molécules pro-inflammatoires, permet de perturber temporairement les jonctions inter-endothéliales

Une perturbation prolongée dans le temps, ou trop forte, de ces jonctions conduit à des phénomènes pathologiques d'**hyper-perméabilité** vasculaire

Messages à retenir

Un endothélium **quiescent** est naturellement **anti-inflammatoire**, pour éviter l'adhésion des **leucocytes** circulant dans le sang

Cet état anti-inflammatoire est conféré en grande partie par l'absence ou la très faible expression de **molécules d'adhésion** (P- et E-sélectines, ICAM-1, VCAM-1) à la surface d'un endothélium quiescent

Une activation endothéliale physiologique induit une **expression de ces molécules d'adhésion** à la surface de l'endothélium, notamment pour permettre le recrutement des leucocytes sanguins au niveau d'un site inflammatoire

Une adhésion de ces leucocytes qui est prolongée dans le temps, ou trop forte, conduit à des phénomènes pathologiques d'**inflammation vasculaire** qui peuvent amplifier les processus de thrombo-inflammation ou obstruer des microvaisseaux

Messages à retenir

Une activation, notamment une inflammation, de l'endothélium déclenche la formation de **caillots sanguins** en stimulant l'adhésion et l'activation des **plaquettes**, et en stimulant le système de la **coagulation**

L'adhésion et l'activation des **plaquettes** sur un endothélium activé sont déclenchées par la libération de **facteur Willebrand (FW)** ou l'exposition de **P-sélectine**.

Le VWF et la P-sélectine sont tous les 2 contenus dans les **corps de Weibel-Palade endothéliaux**, et sont libérés par **exocytose**, suite à une activation endothéliale

Messages à retenir

Un endothélium activé peut également déclencher la cascade de la coagulation par l'expression de **facteur tissulaire (FT)** et l'exposition de **phosphatidylsérine (PtdSer)** à sa surface. La PtdSer, exposée également à la surface des plaquettes activées, favorise grandement les réactions enzymatiques de la cascade de la coagulation et « active » le FT.

La cascade de la coagulation génère de la **thrombine**, qui génère de la fibrine à partir du fibrinogène.

La thrombine est également un **agent thrombo-inflammatoire puissant** en raison de sa capacité à activer les plaquettes et les cellules endothéliales. La thrombine amplifie donc les réponses thrombotiques et inflammatoires, et doit absolument être contrôlée négativement.

Messages à retenir

Un endothélium quiescent est naturellement **antithrombotique**, en inhibant les processus d'**adhésion et d'activation plaquettaire** et la **coagulation**.

Un endothélium quiescent produit constitutivement du **NO** et de la **prostacycline** (PGI_2) pour inhiber le processus d'adhésion et d'activation plaquettares

Un endothélium quiescent produit constitutivement des **protéines anticoagulantes** solubles (Protéine S et TFPI) et exprime à sa surface des **récepteurs anticoagulants (Thrombomoduline)** et des glycosaminoglycanes (GAGs), comme les **héparan sulfates**, qui activent une protéine anticoagulante physiologique, l'antithrombine.

La **thrombomoduline (TM)** permet l'activation par la thrombine de la Protéine C en **Protéine C activée (PCa)**, une puissante protéine anticoagulante physiologique qui est particulièrement importante pour limiter la génération de thrombine à la surface d'un endothélium activé

Messages à retenir

Un endothélium quiescent est **anti-inflammatoire**, **semi-perméable** et **anti-thrombotique**

L'activation constitutive du **facteur de transcription KLF2** est importante pour maintenir l'endothélium dans son état quiescent (ou pour limiter son activation)

L'expression et l'activation de KLF2 déclenchent l'expression de **facteurs antithrombotiques** (thrombomoduline) et **anti-inflammatoires** (eNOS), et **inhibent l'expression** des molécules d'adhésion endothéliales (VCAM-1, E-sélectine)

Physiologiquement, l'exposition de l'endothélium à un **flux sanguin laminaire** stimule des récepteurs de « mécano-transduction » qui déclenchent des voies de signalisation intracellulaires conduisant à la forte expression et à l'activation de KLF2.

Messages à retenir

Des **récepteurs endothéliaux**, et les voies de signalisation que déclenchent ces récepteurs, sont importants pour assurer et maintenir la quiescence endothéliale. Le **récepteur Tie2** est un récepteur tyrosine kinase presque exclusivement endothélial permettant d'assurer la quiescence de l'endothélium vasculaire

Tie2 est **activé** constitutivement par l'**Angiopoïétine-1 (Ang-1)** produite par les **cellules murales vasculaires** (péricytes et cellules musculaires lisses). La signalisation Tie2 entraîne l'inhibition de l'expression des molécules d'adhésion endothéliales, renforce les jonctions inter-endothéliales, et inhibe l'expression du facteur tissulaire

L'**Angiopoïétine-2 (Ang-2)** est un **antagoniste** du récepteur Tie2 contenu dans les corps de Weibel-Palade endothéliaux. Après activation endothéliale, l'Ang-2 est libérée par exocytose des corps de Weibel-Palade et peut désactiver le récepteur Tie2, entraînant la réduction ou la perte des effets protecteurs de l'Ang-1 sur l'endothélium. L'Ang-2 est donc un **puissant agent thrombo-inflammatoire**