

# L'endothélium vasculaire : interface dynamique entre sang et vaisseaux

François SALLER

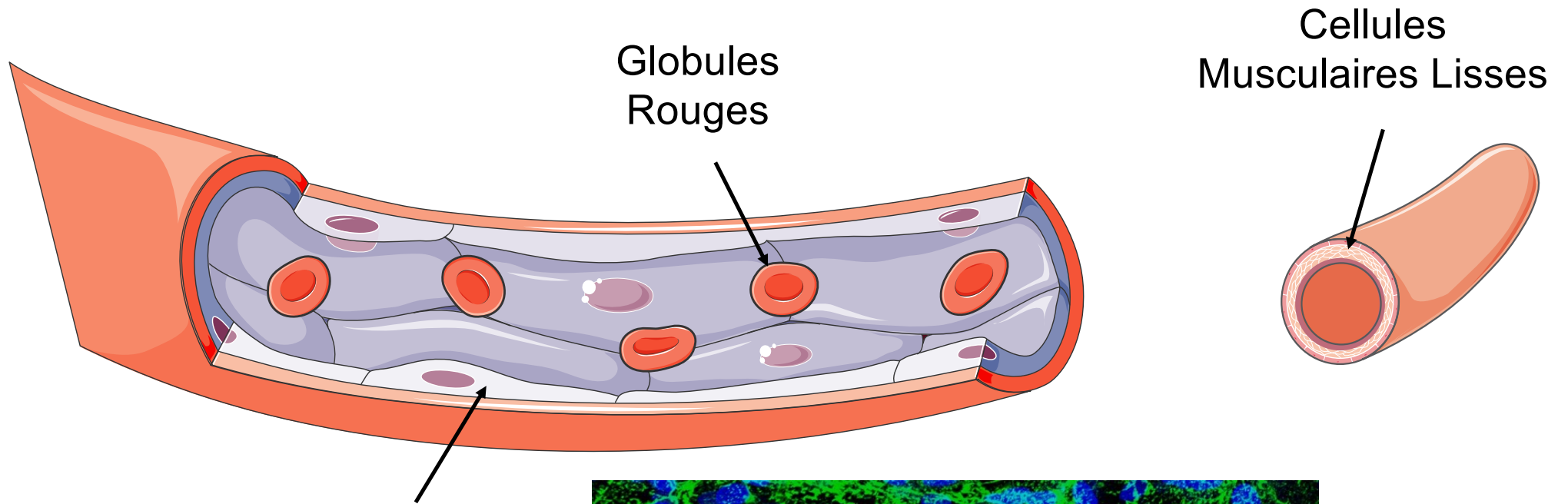
[francois.saller@universite-paris-saclay.fr](mailto:francois.saller@universite-paris-saclay.fr)

Jeudi 24 Octobre 2024

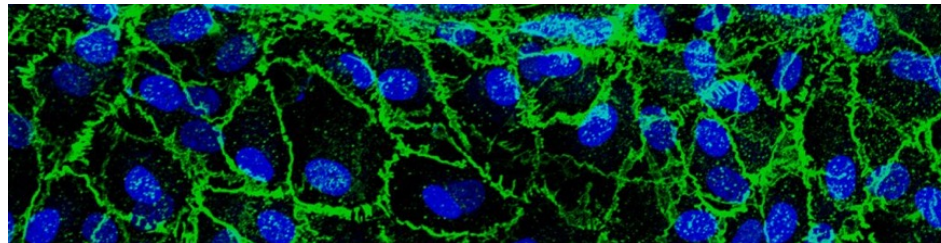


# Les vaisseaux sanguins

---



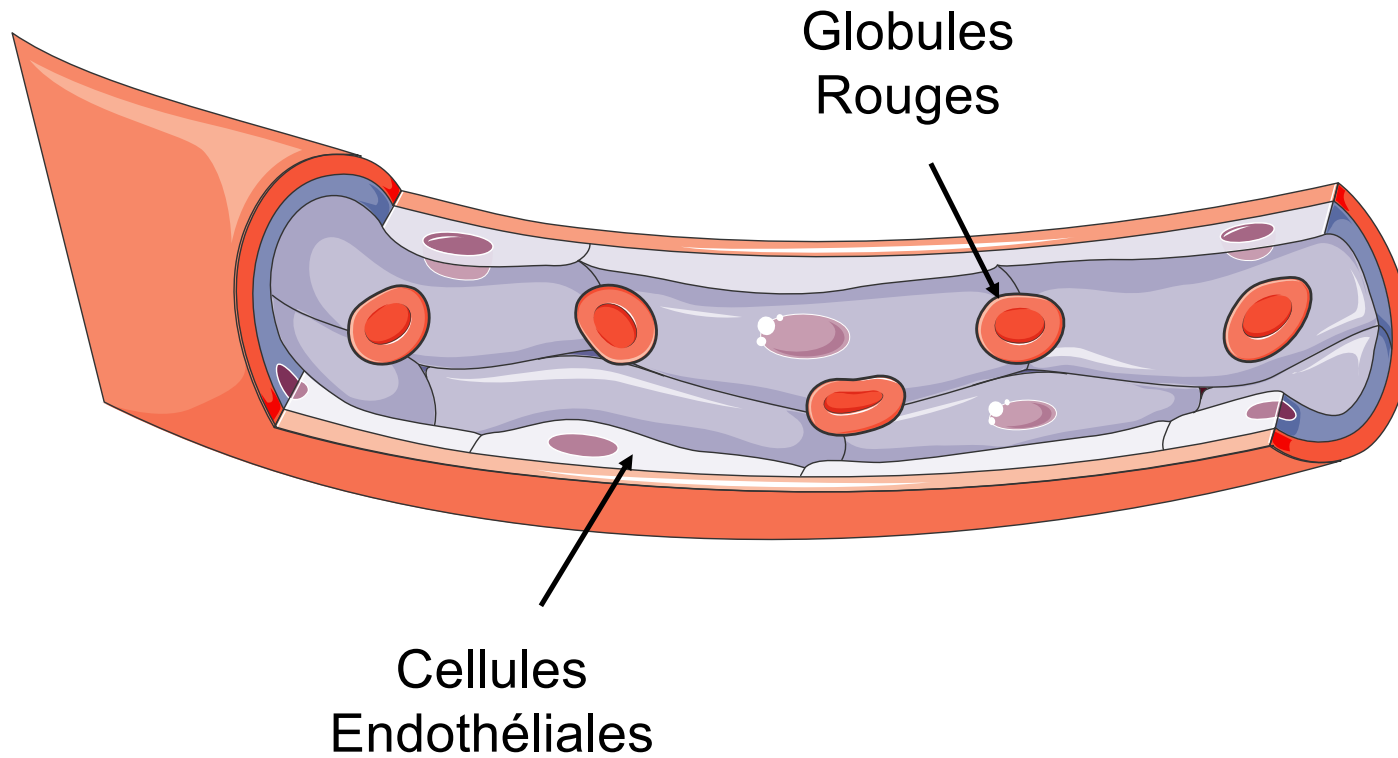
Cellules  
Endothéliales



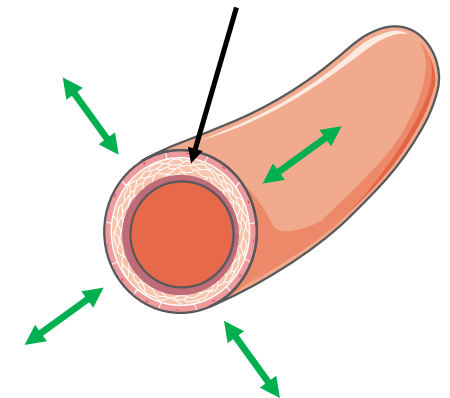
Endothélium vasculaire

# Les vaisseaux sanguins

---



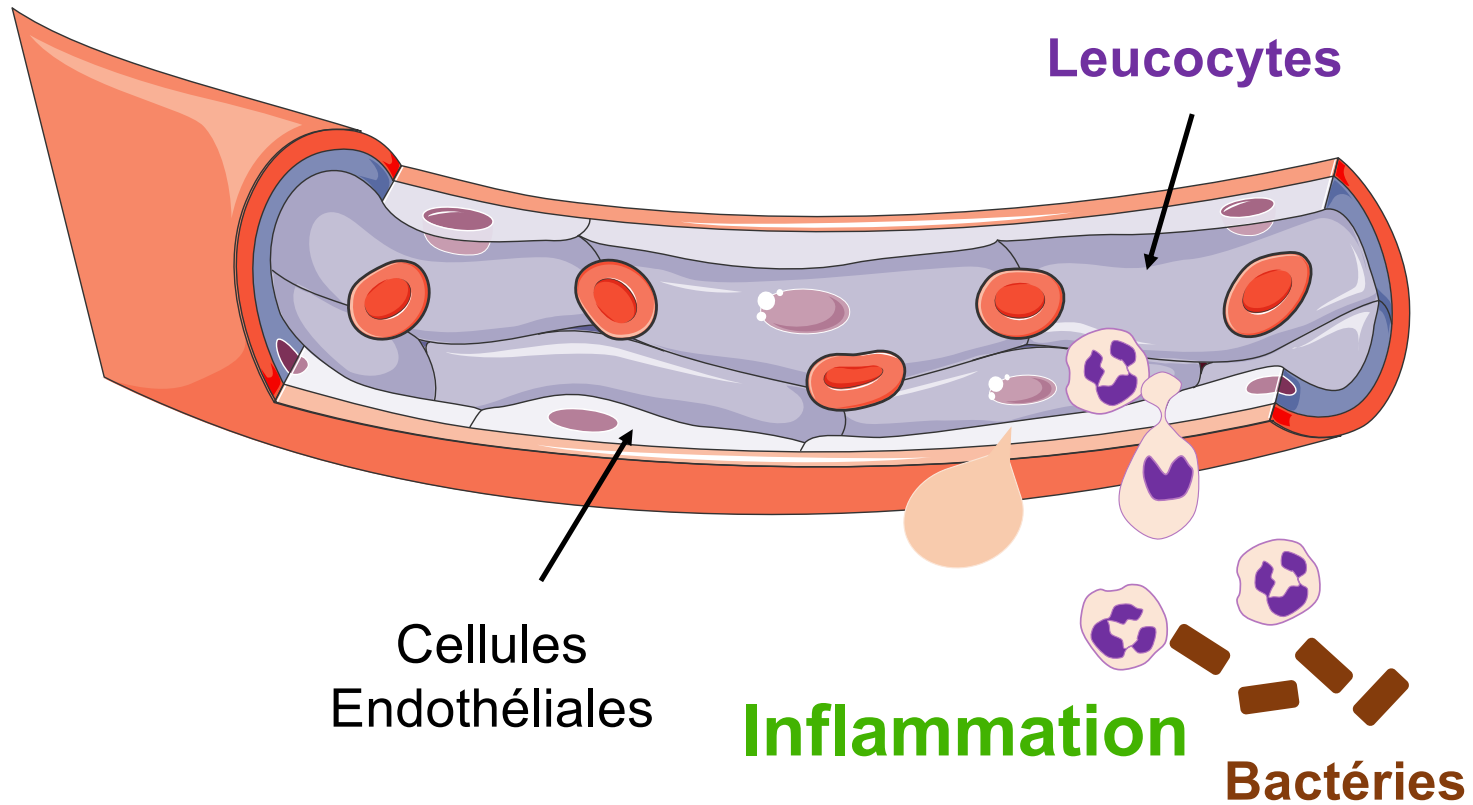
Cellules Musculaires Lisses



**Tonus Vasculaire**

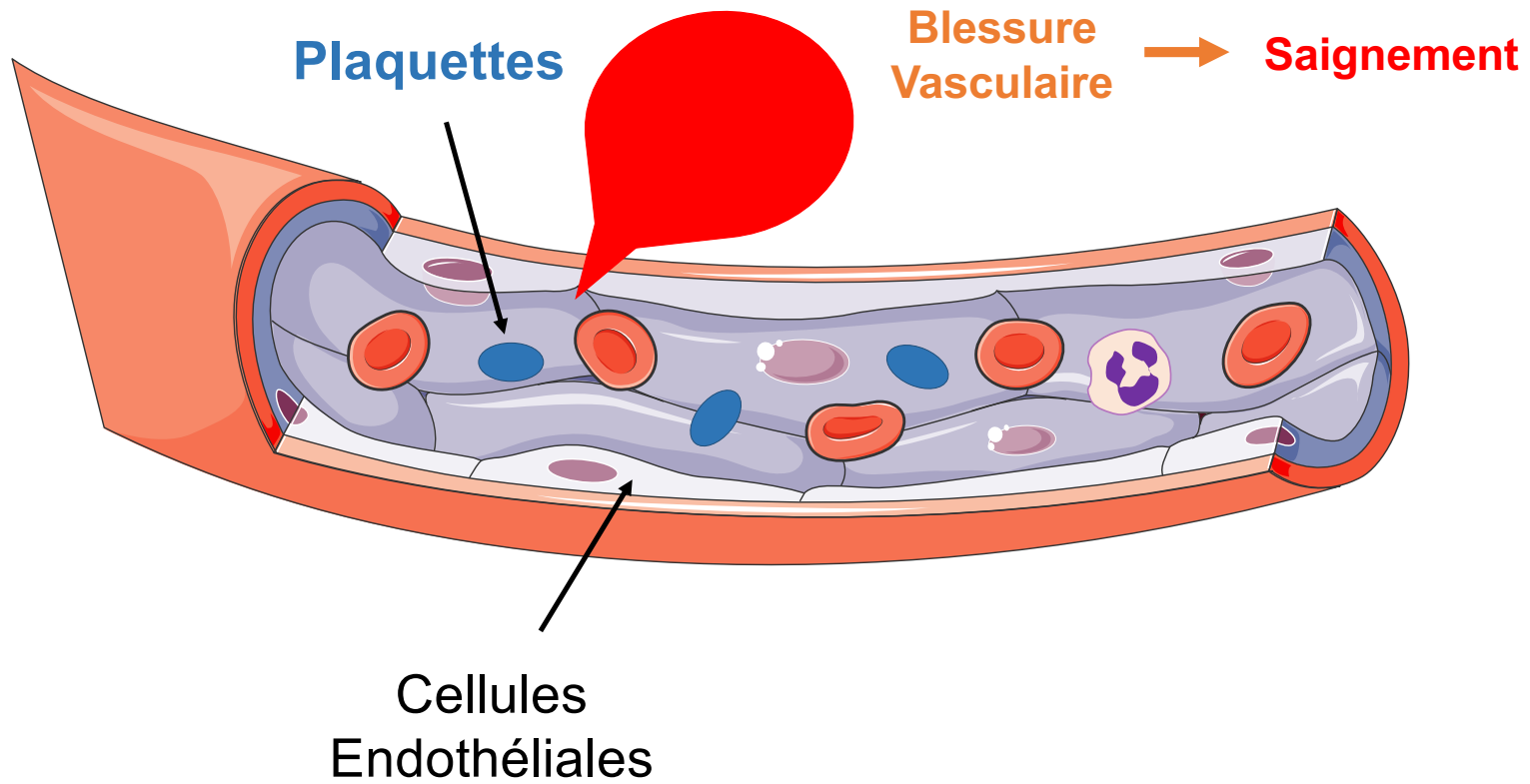
# Les vaisseaux sanguins

---



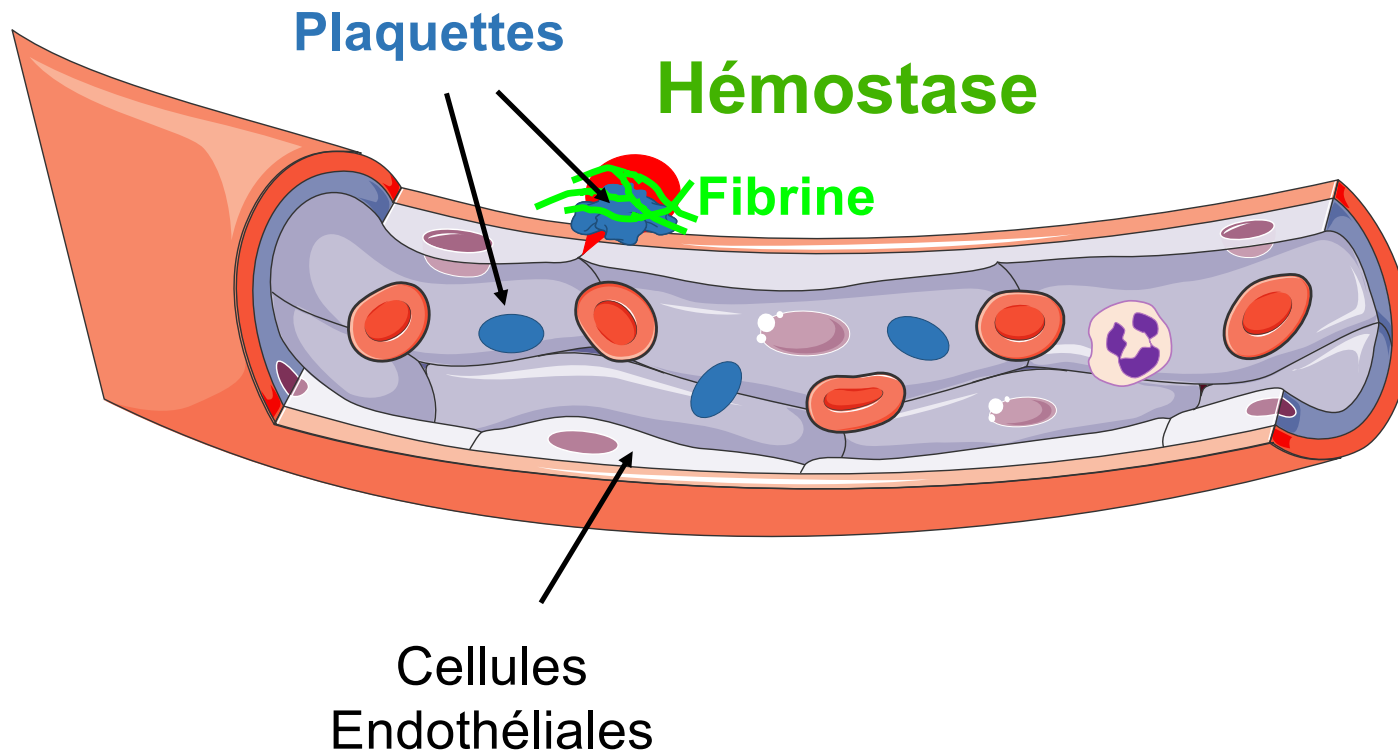
# Les vaisseaux sanguins

---



# Les vaisseaux sanguins

---

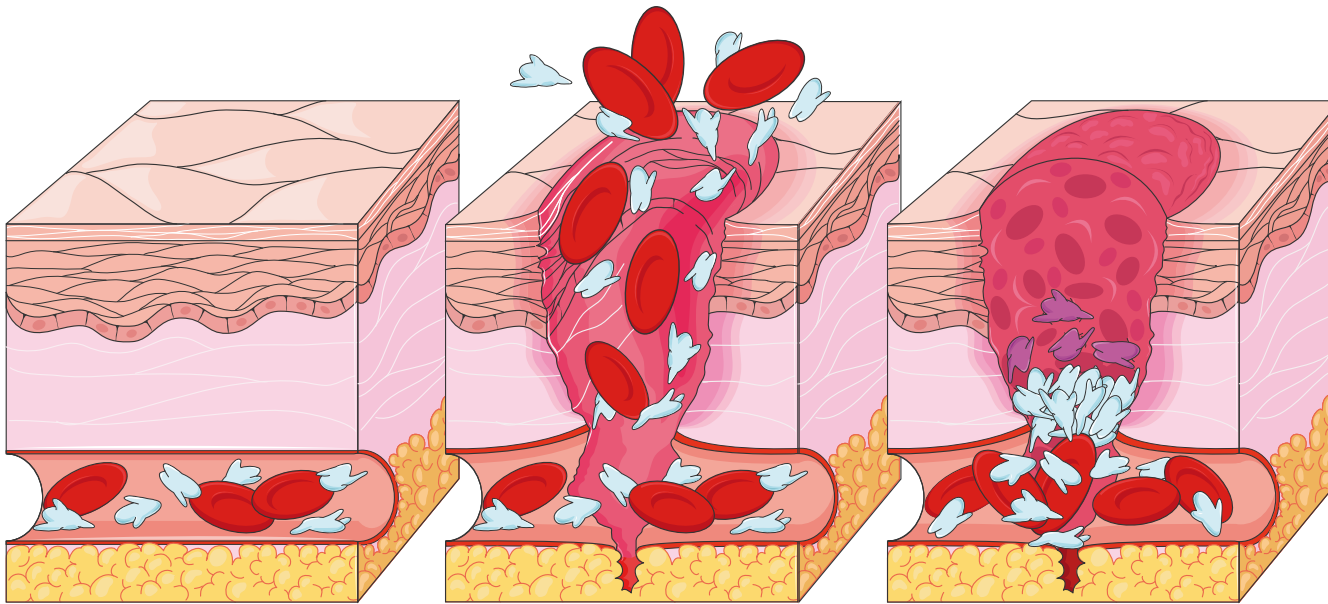


# Hémostase

**Brèche  
Vasculaire**



**Arrêt du  
Saignement**

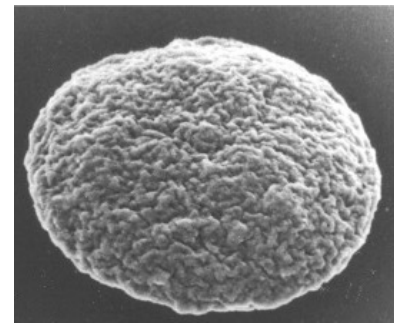


Hémostase primaire  
(Plaquettes)

Coagulation

Fibrinolyse

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

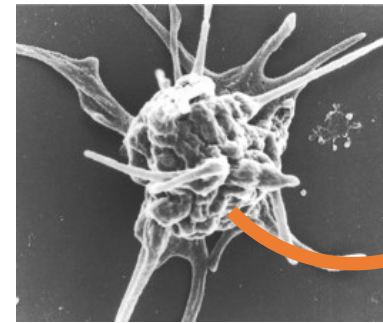


Plaquettes **au repos**

Agonistes  
plaquettaires



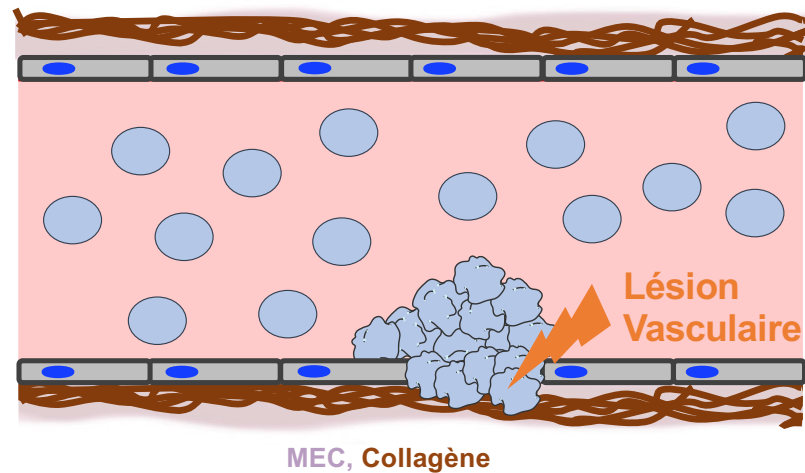
Collagène  
Facteur Willebrand  
ADP  
TXA2  
Thrombine  
...



Plaquettes **activées**



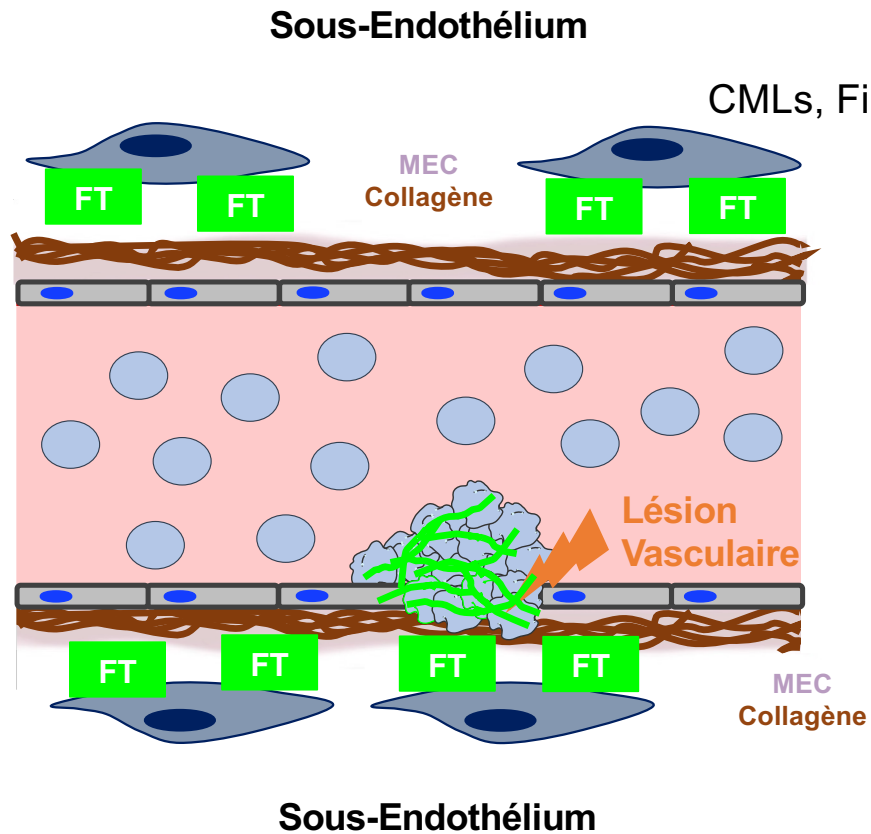
**Sécrétion**



**Activation + Agrégation**  
des plaquettes



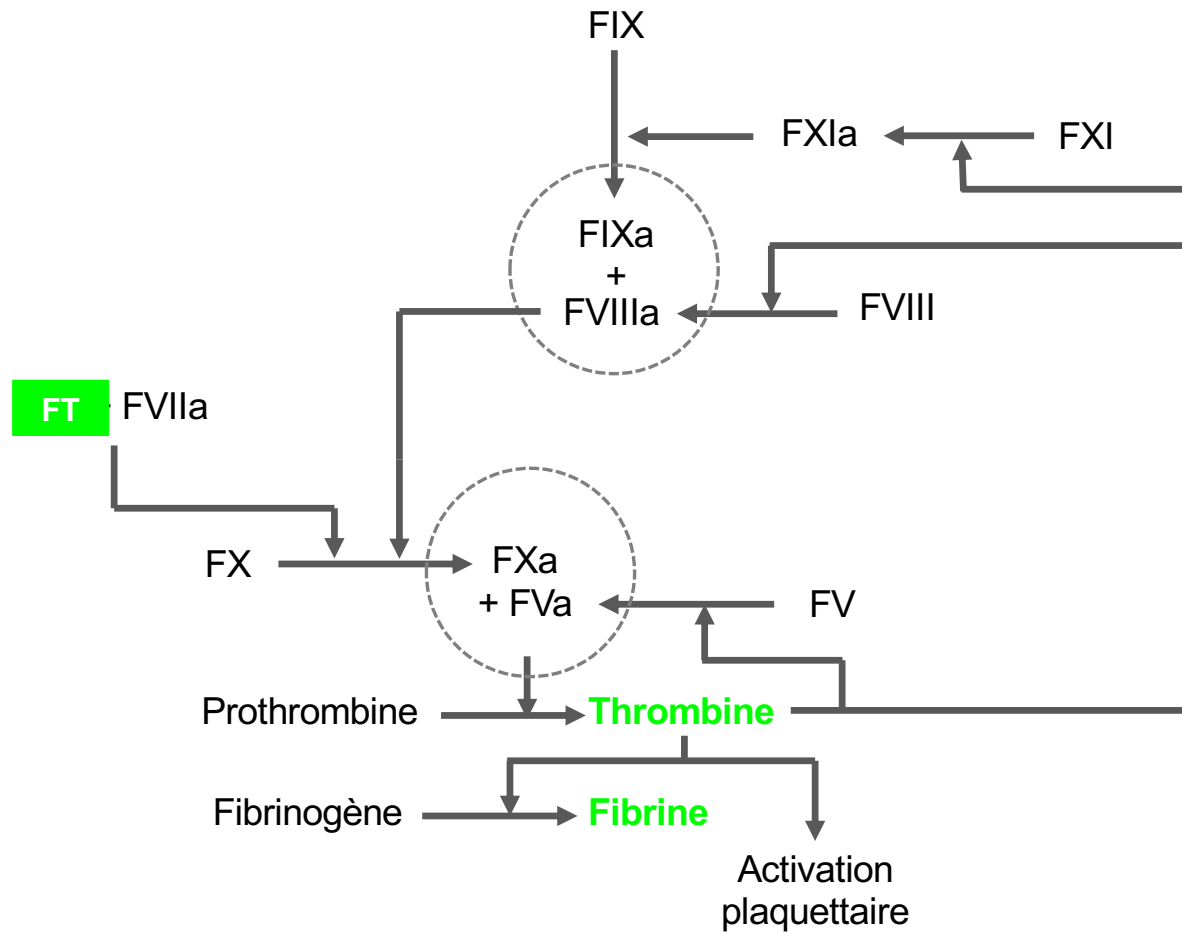
# Cascade de la coagulation



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

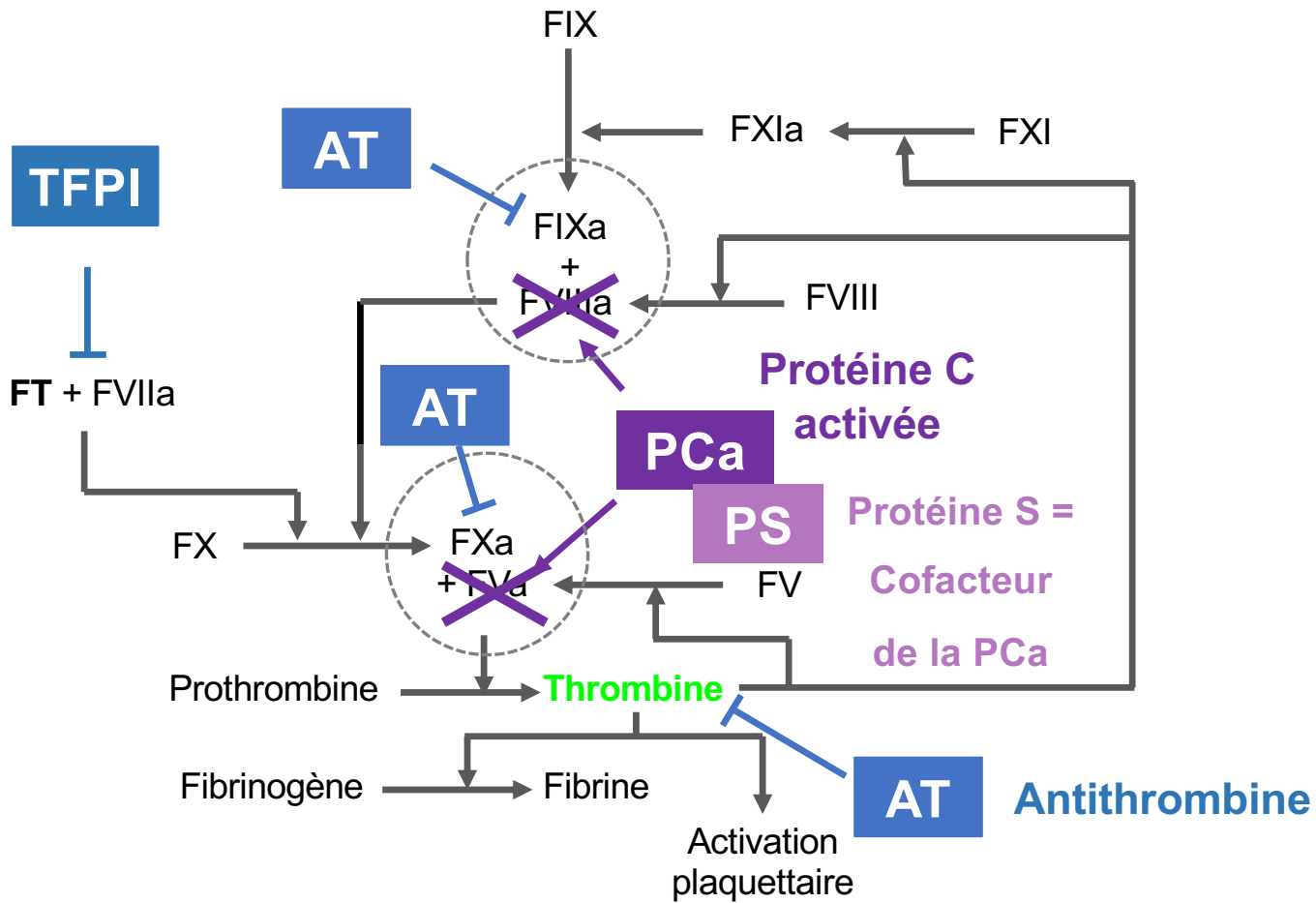
# Cascade de la coagulation

Déclencheur de la  
coagulation  
en « activant » le FVIIa

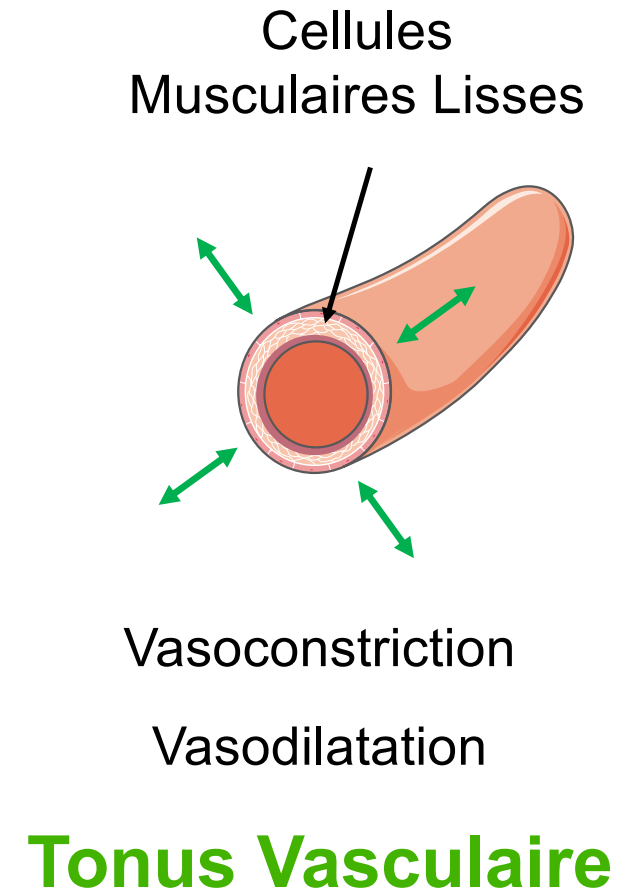
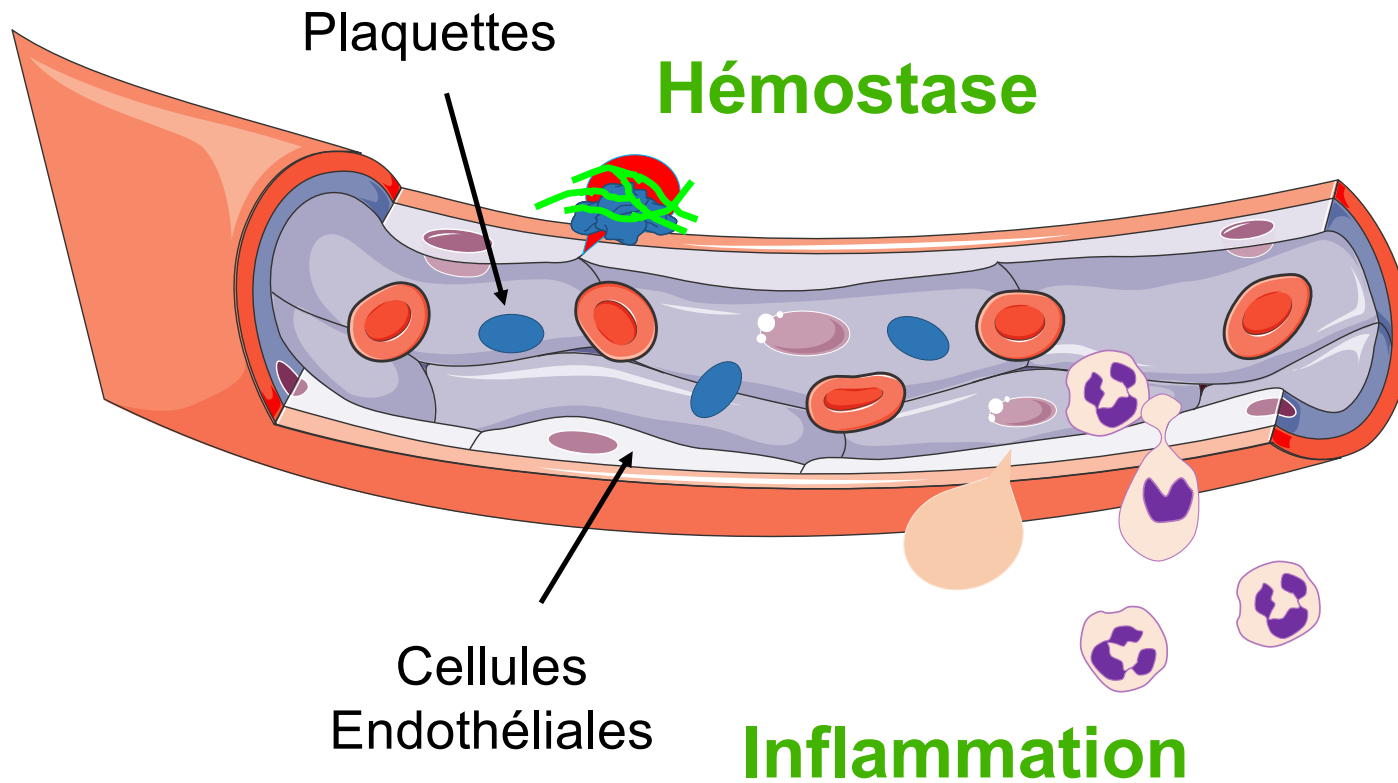


# Anticoagulants physiologiques (= Naturels)

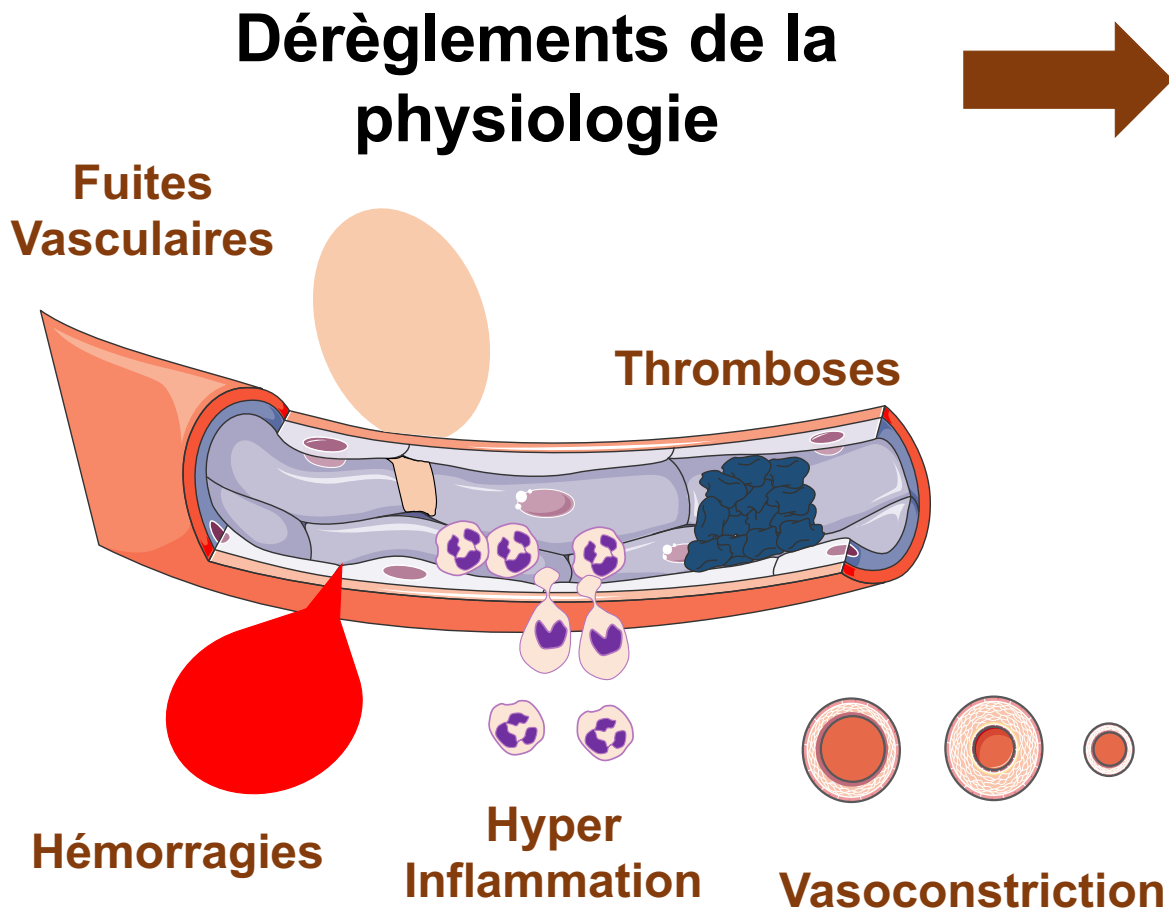
Inhibiteur de la voie  
du facteur tissulaire



# Réponses **physiologiques** du vaisseau sanguin



# Mécanismes **physiopathologiques** en biologie vasculaire



## **Pathologies**

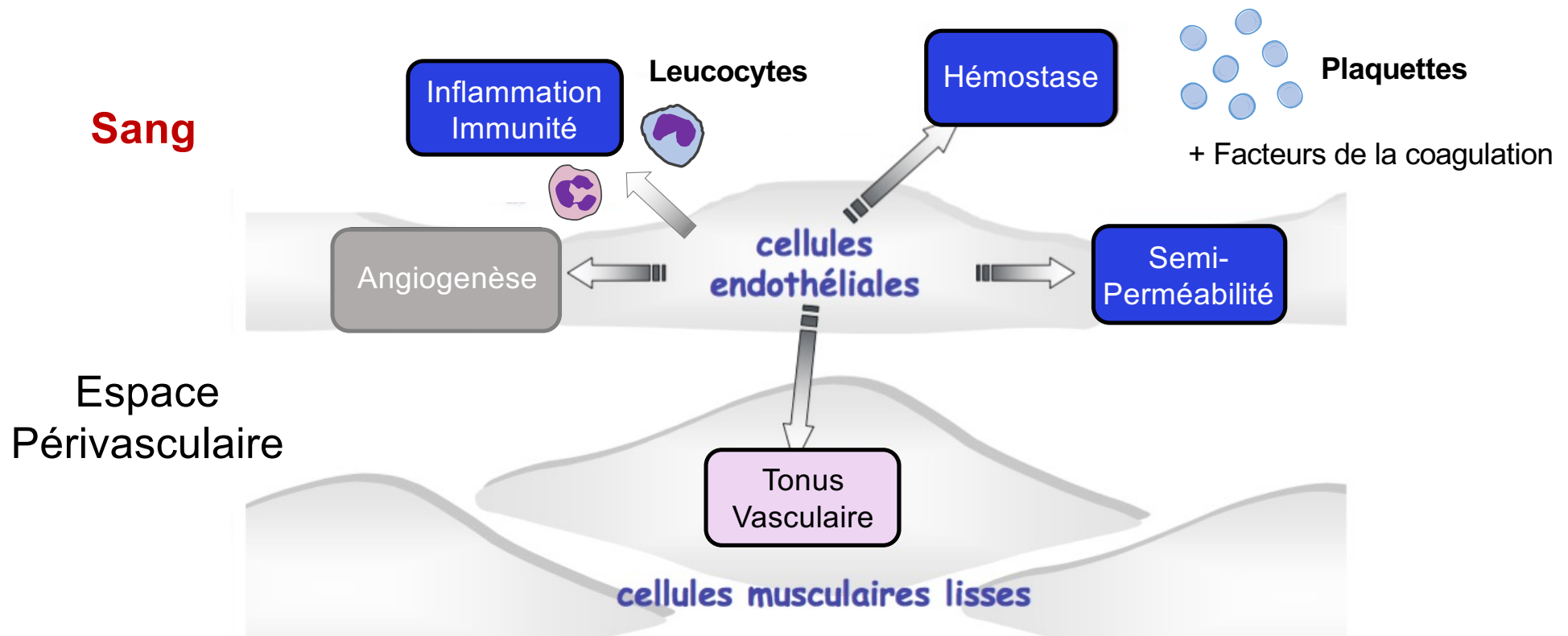
Maladies hémorragiques  
Maladies thrombotiques  
Sepsis  
Dengue sévère  
Méningococcémie  
Drépanocytose  
Athérosclérose  
Hypertensions pulmonaires

...

# 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- $\alpha$**

Médiateurs inflammatoires



Anticorps



Perturbation du flux sanguin

**pO<sub>2</sub>** ↓

Hypoxie



Globules rouges anormaux



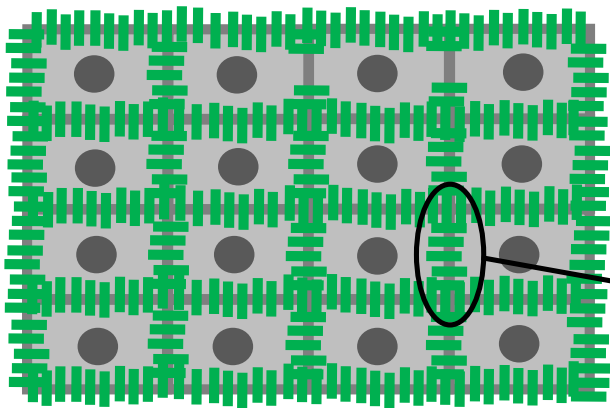
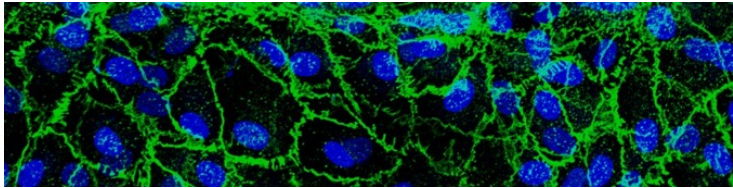
Médicaments

**Etc...**

# L'endothélium est naturellement semi-perméable

Monocouche de cellules endothéliales  
en culture

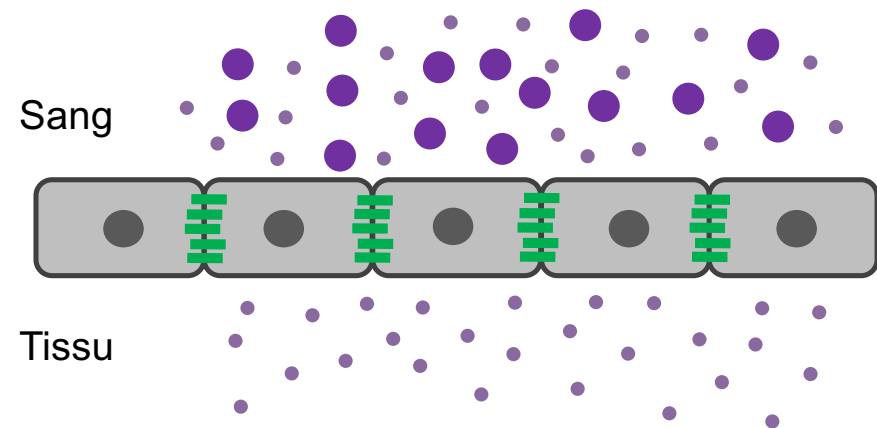
(Marquage avec **anti-VE cadhérine FITC**)



**Jonctions  
Inter-Endothéliales**

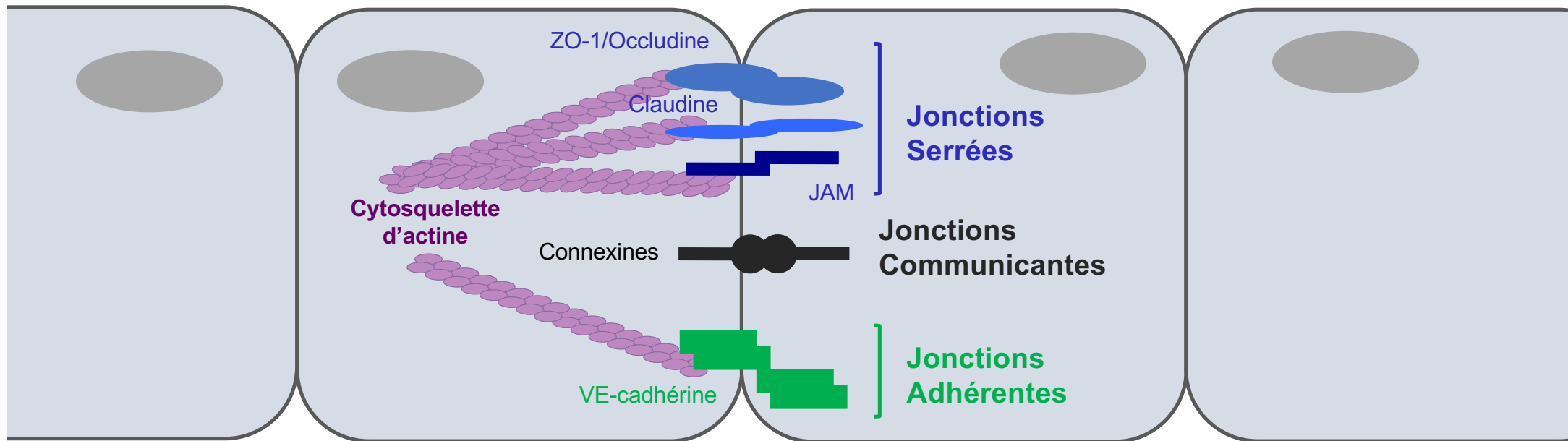
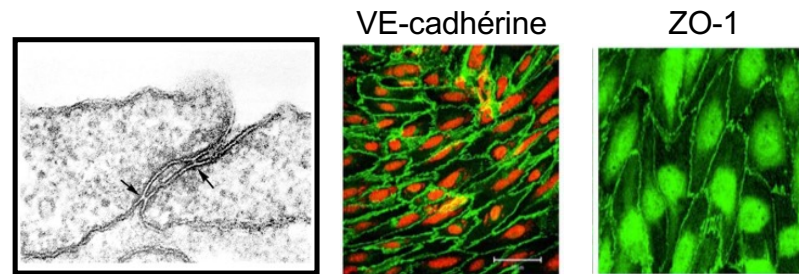
Perméabilité essentiellement  
dépendante de la taille

= « **Semi-Perméabilité** »





# Jonctions inter-endothéliales

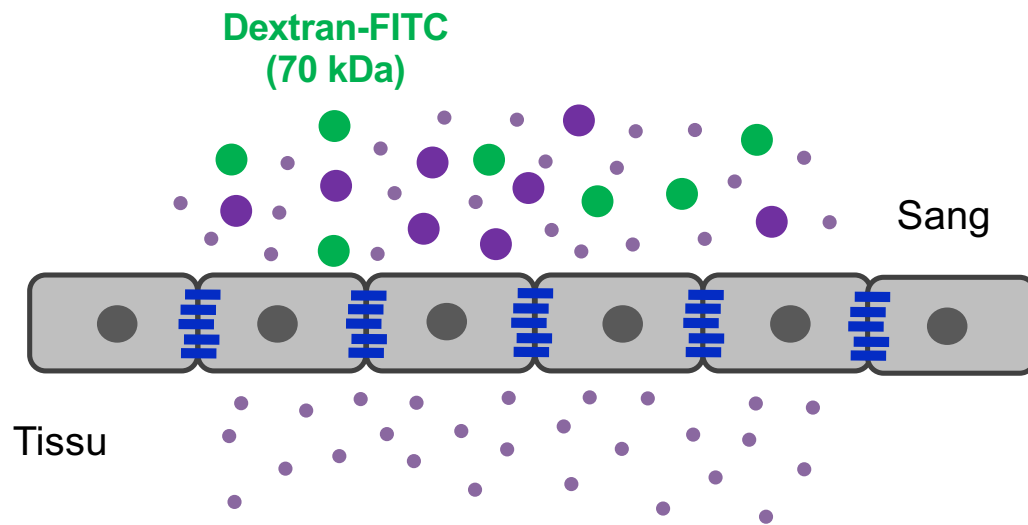
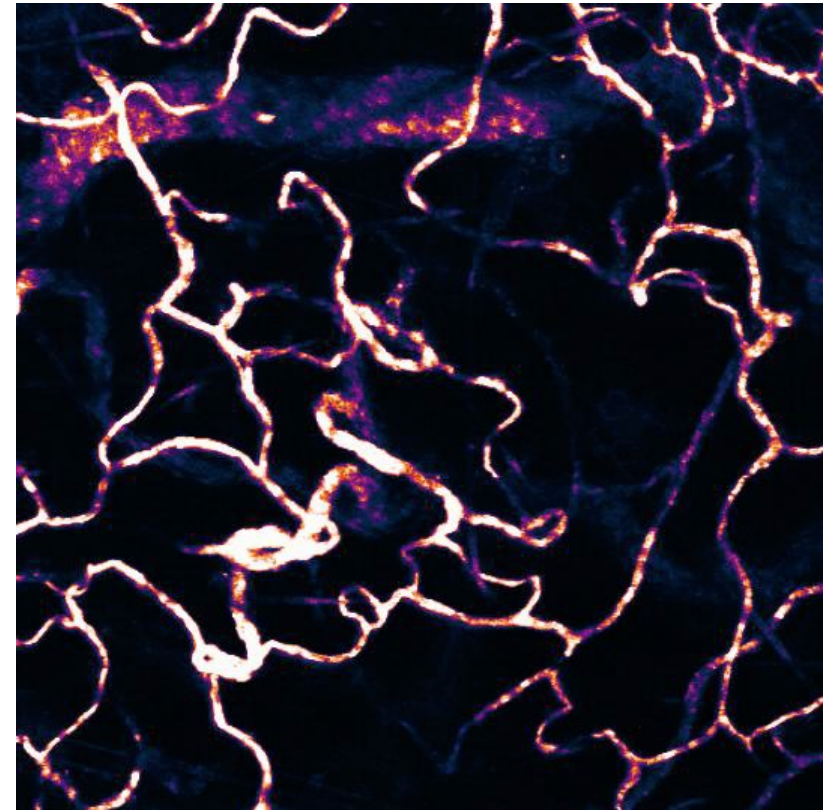
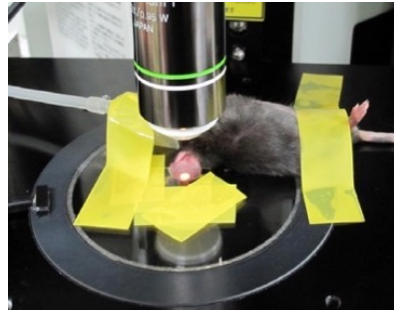


# Observation de la semi-perméabilité *in vivo*

Microscopie intravitale

**Microvaisseaux** sous-cutanés  
(Oreille de Souris)

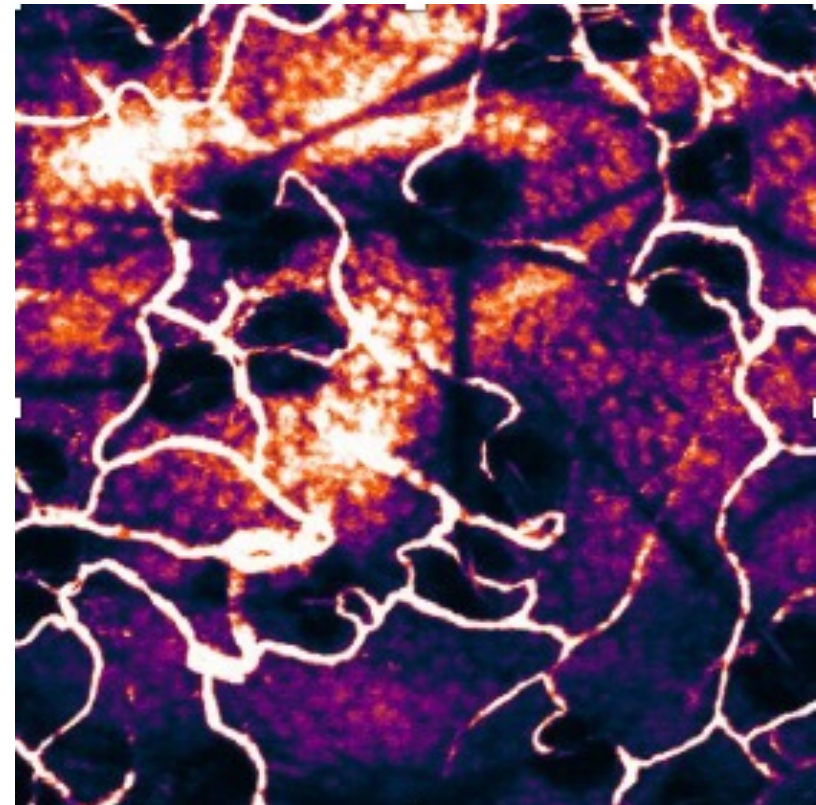
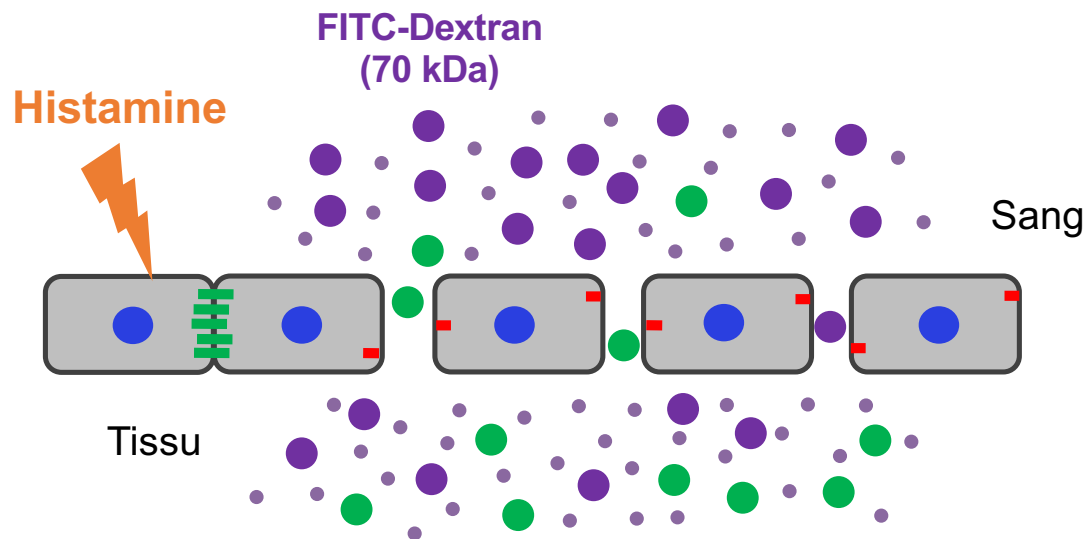
Injection d'un **traceur fluorescent**  
dans la circulation (Dextran-FITC)



# 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**

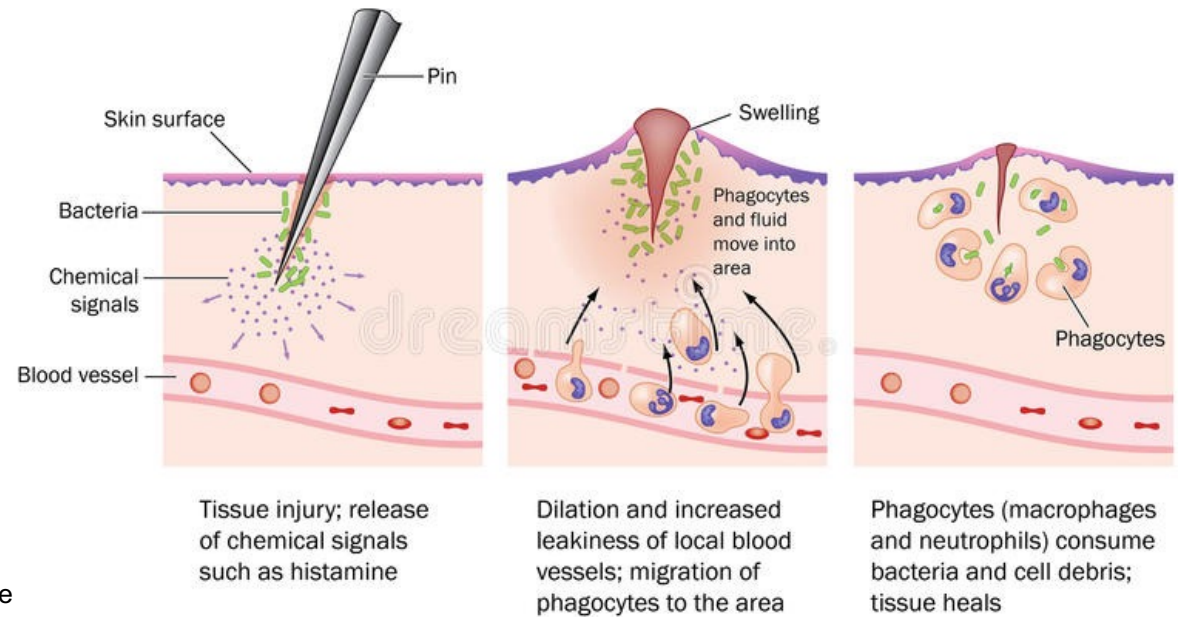
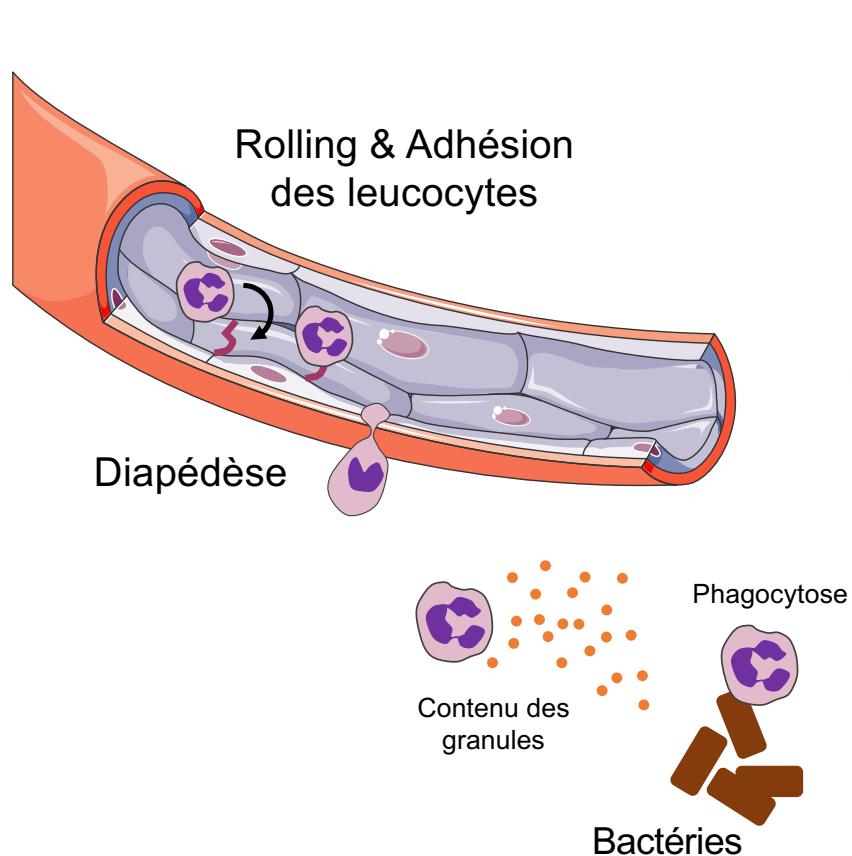
**Angioedème Hériditaire**



**Syndrome de Fuites Capillaires**

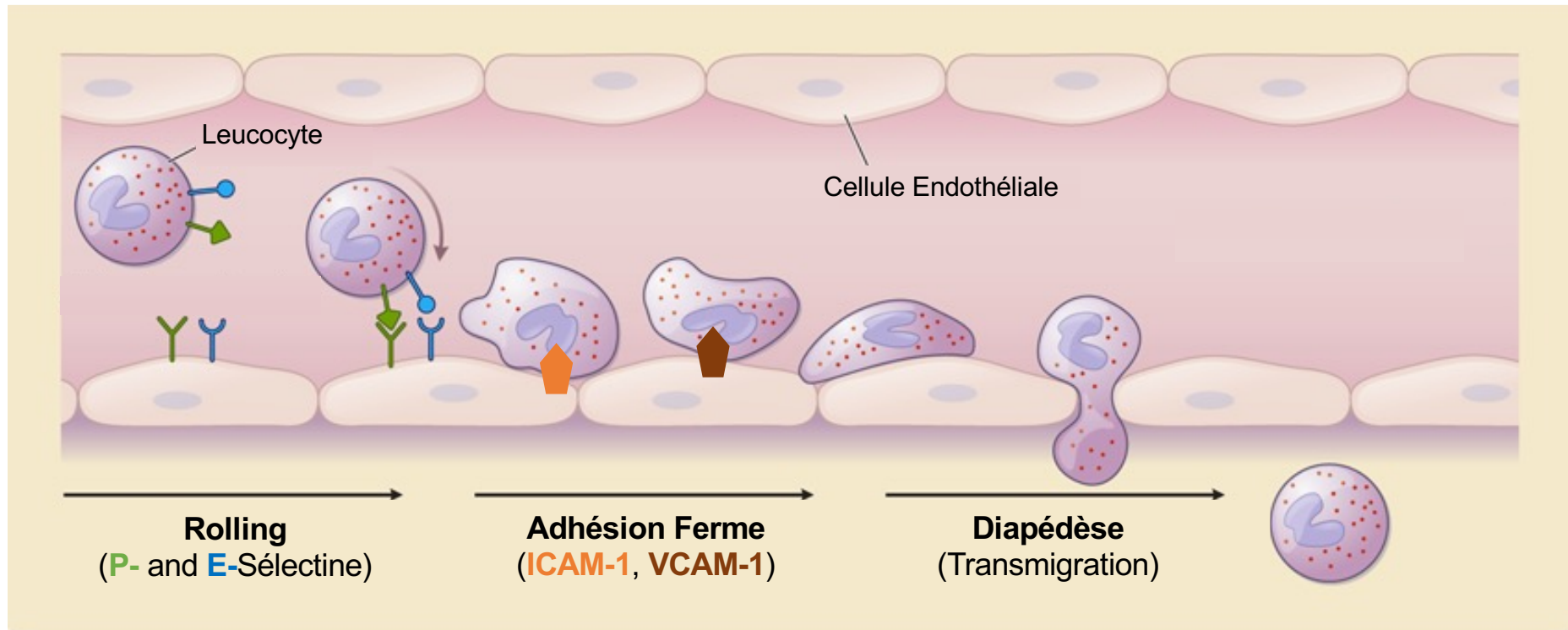


# Rôle central de l'endothélium activé dans l'inflammation



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**

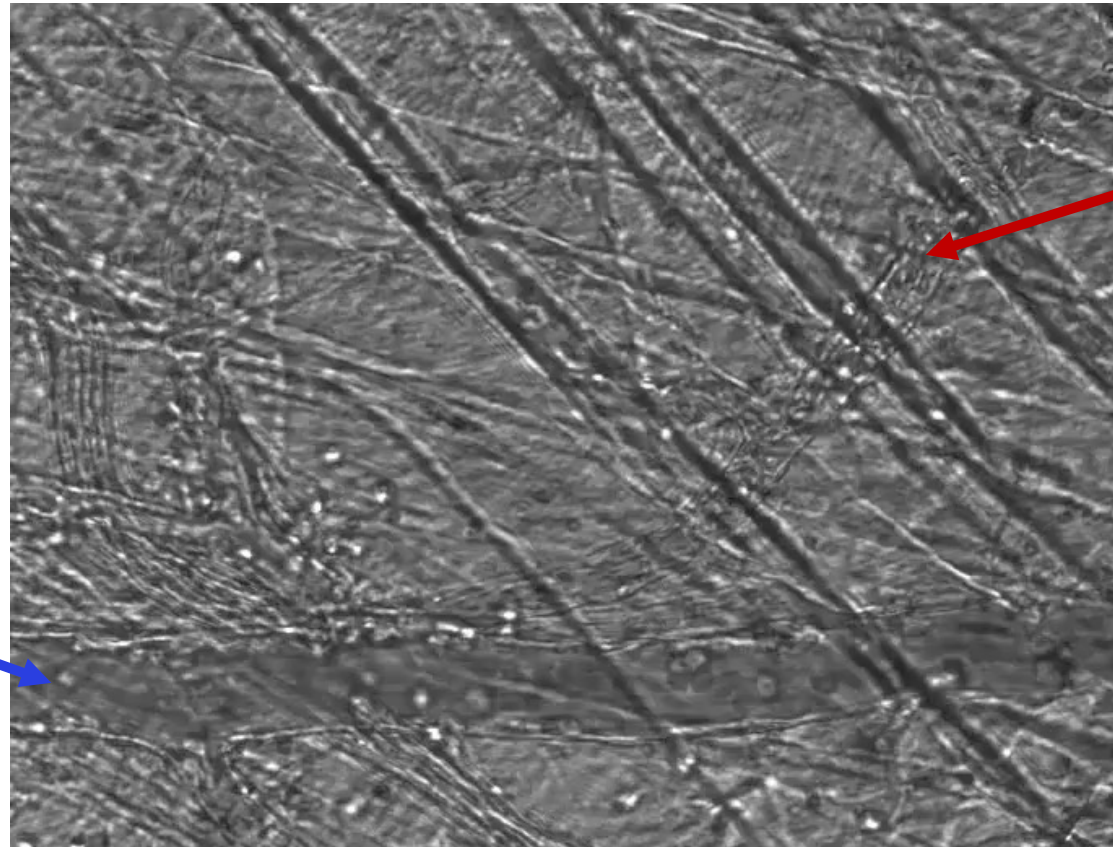
**ICAM-1, VCAM-1**

= « Molécules d'adhésion »

# Recrutement leucocytaire par un endothélium activé

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

**Veinule**

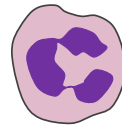


**Artériole**

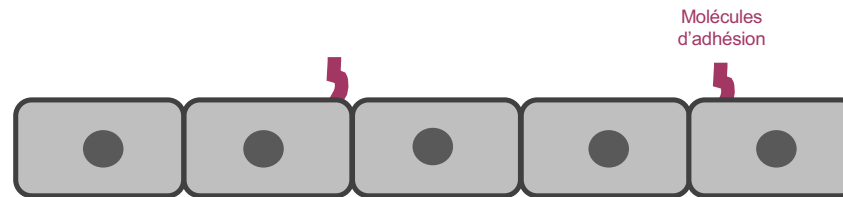
Principalement au niveau des **veinules post-capillaires** dans la plupart des organes

# Importance des molécules d'adhésion endothéliales

---



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

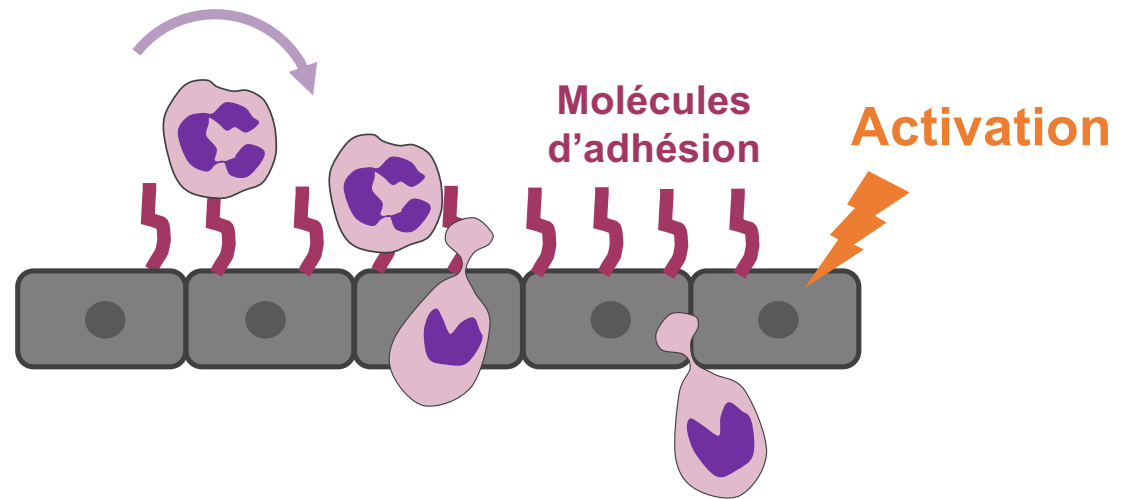




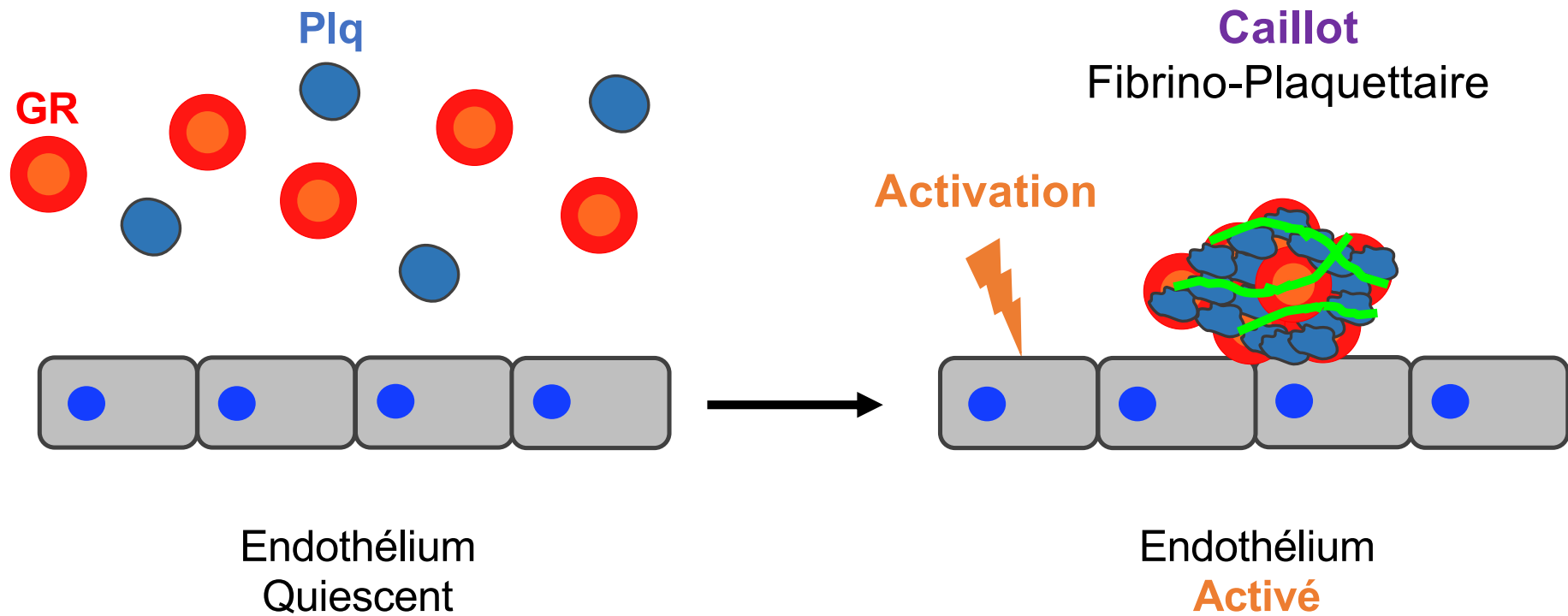
# Importance des molécules d'adhésion endothéliales

---

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

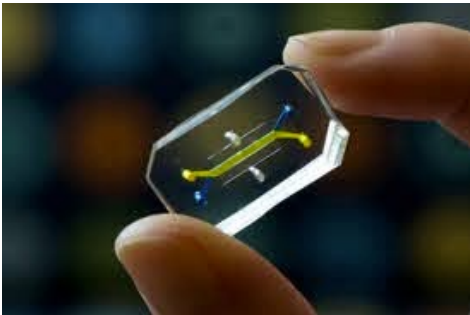


# Réponses **thrombotiques** de l'endothélium vasculaire

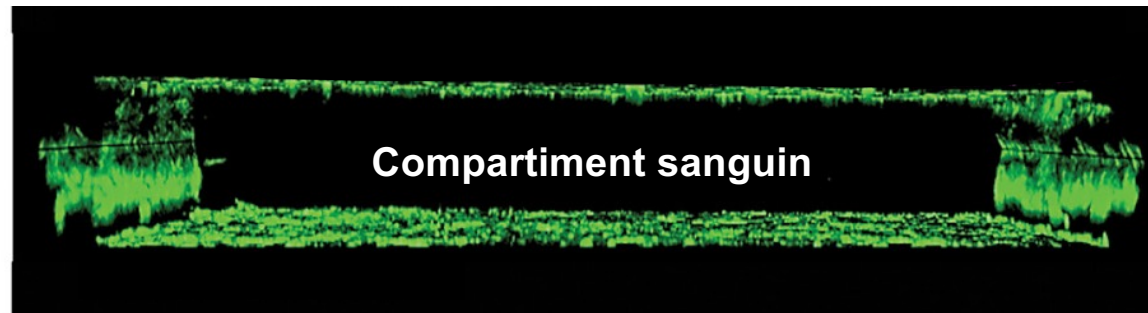


# Modèle microfluidique de vaisseau sanguin

Puce



« Vaisseau sur puce »



Système microfluidique



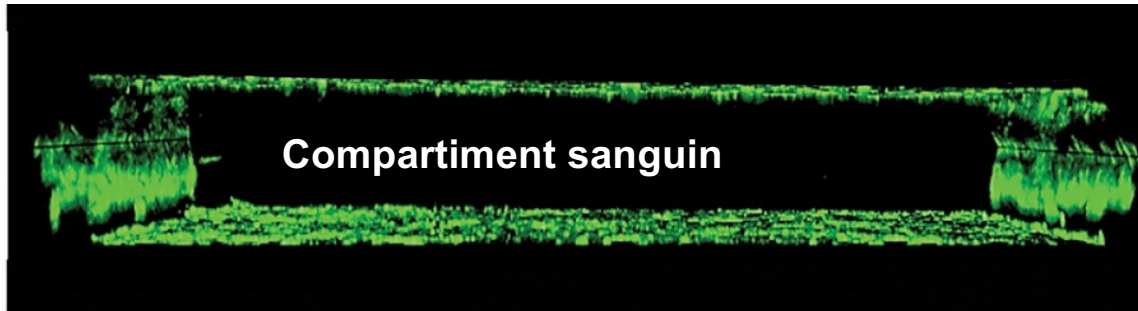
Cellules endothéliales humaines cultivées **sous flux**

Conditions « **physiologiques** »

Les cellules endothéliales acquièrent un phénotype **quiescent**

# Modèle microfluidique de vaisseau sanguin

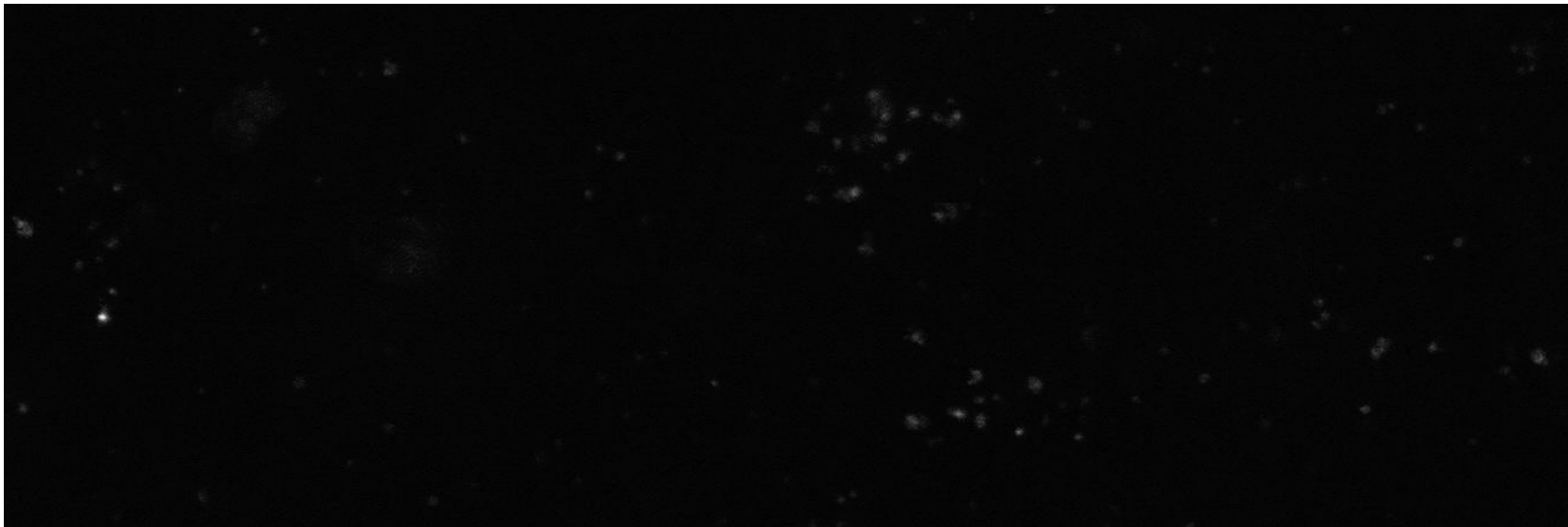
---



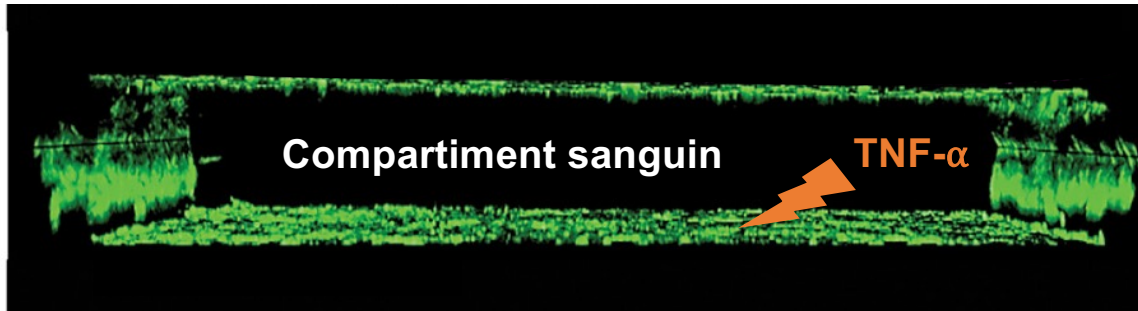
Microvaisseau **non traité**

Puis, perfusion de **sang total**

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



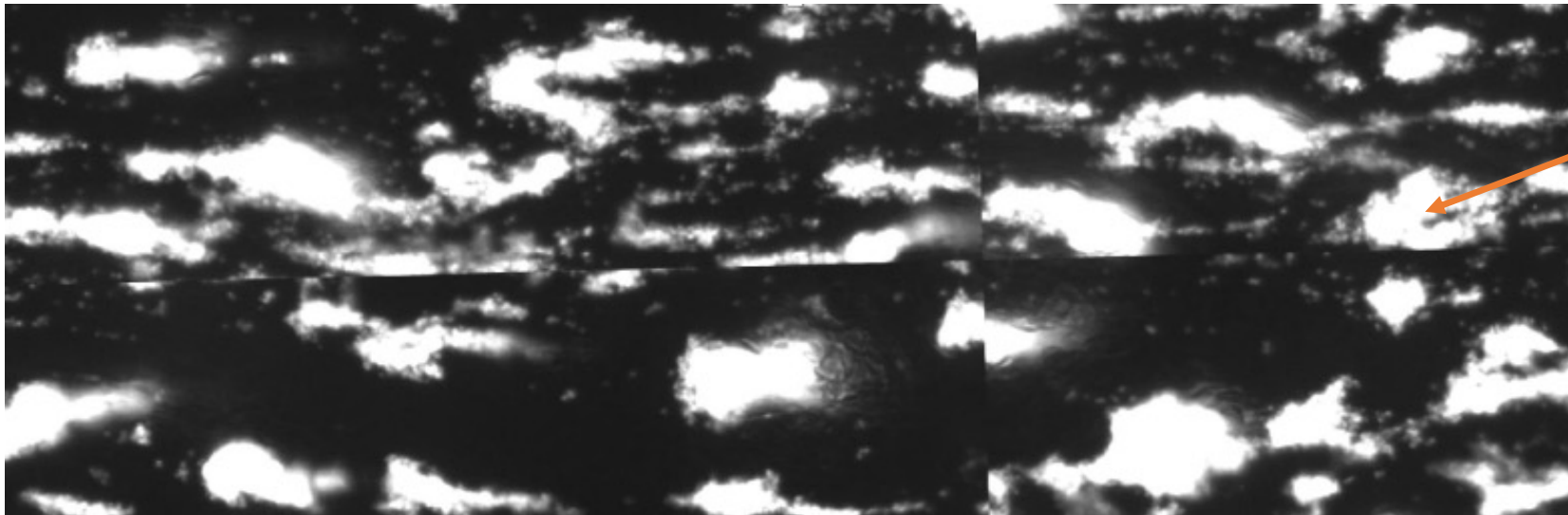
# Modèle microfluidique de vaisseau sanguin



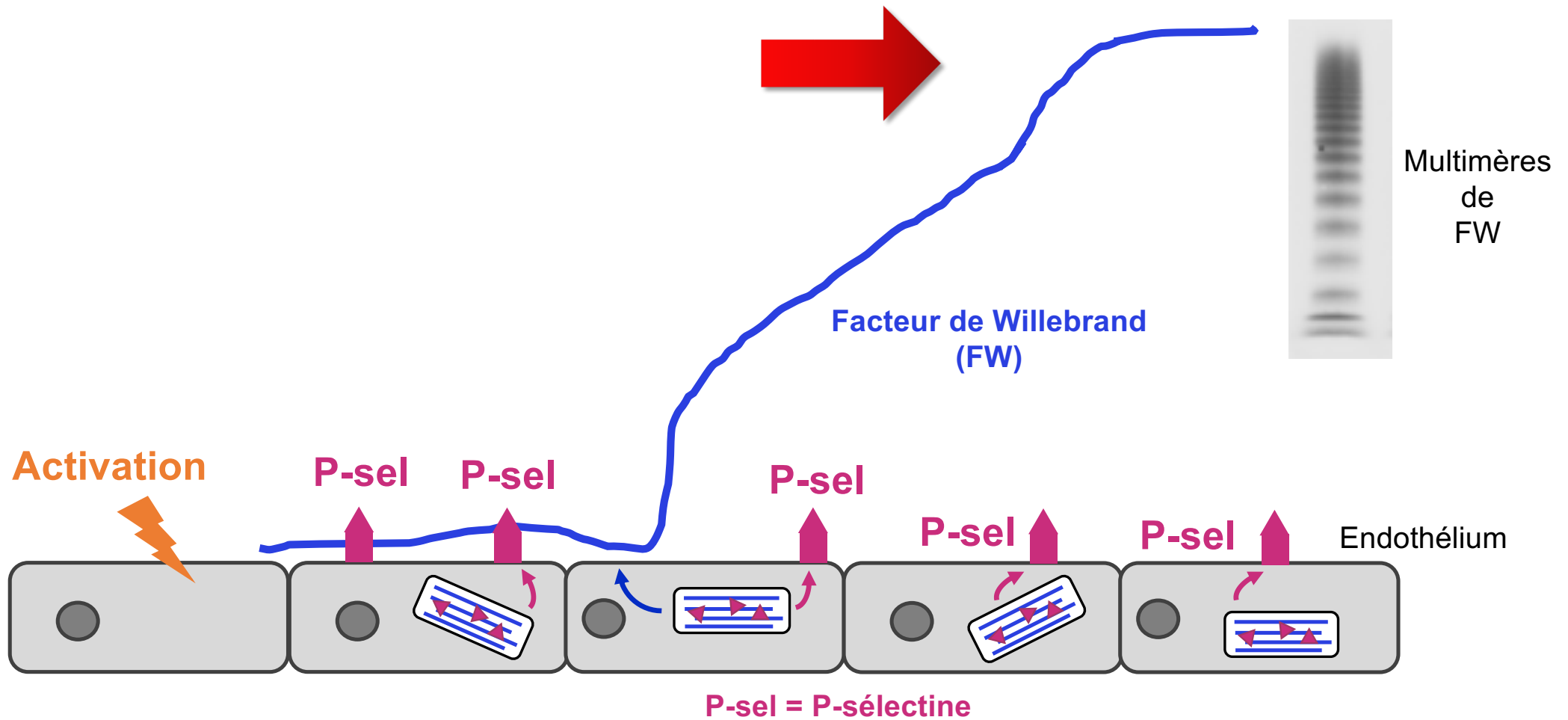
Microvaisseau traité au TNF- $\alpha$  (4 h)

Puis, perfusion de sang total

Détection des plaquettes avec Anti-CD41-PE

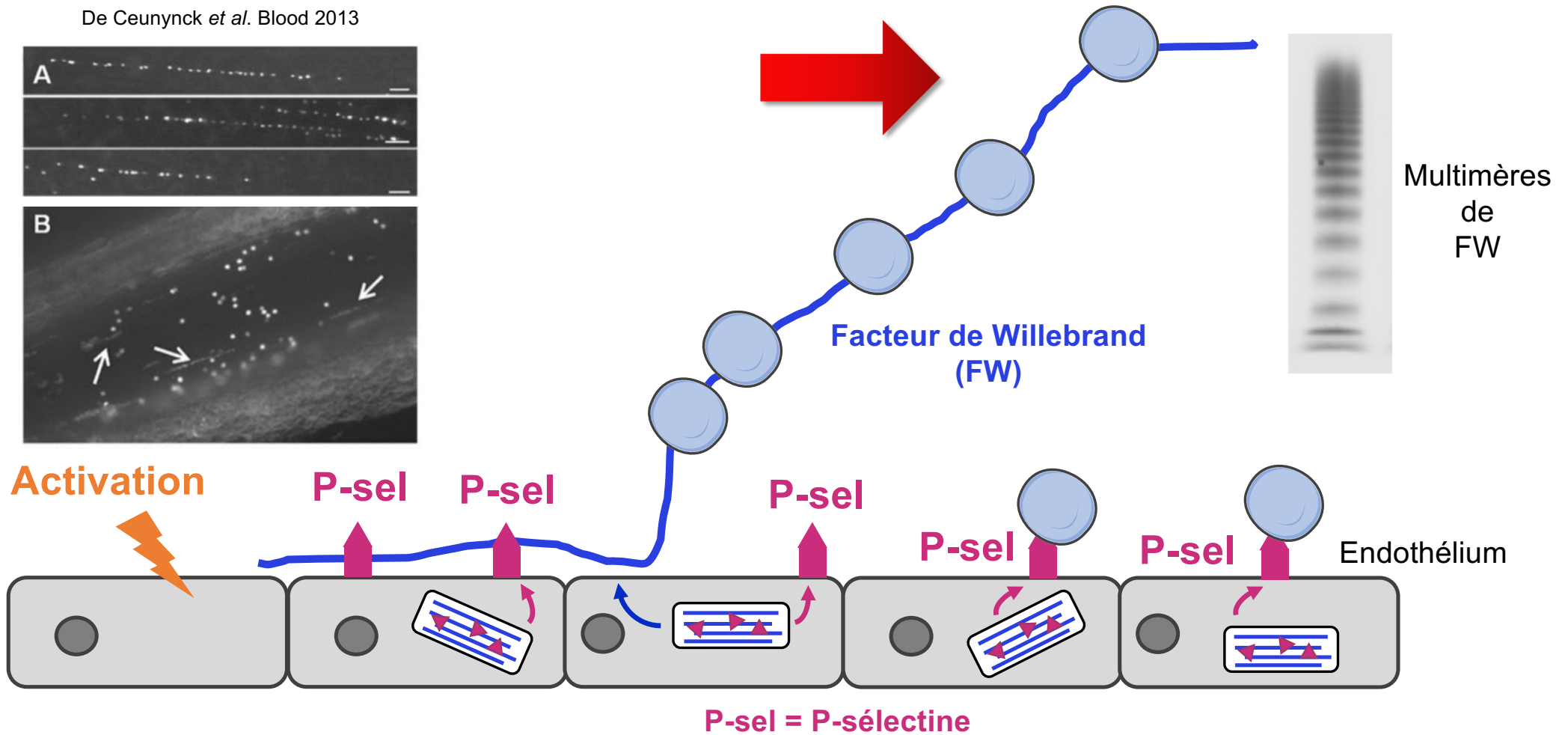


# L'endothélium activé déclenche l'accumulation de plaquettes



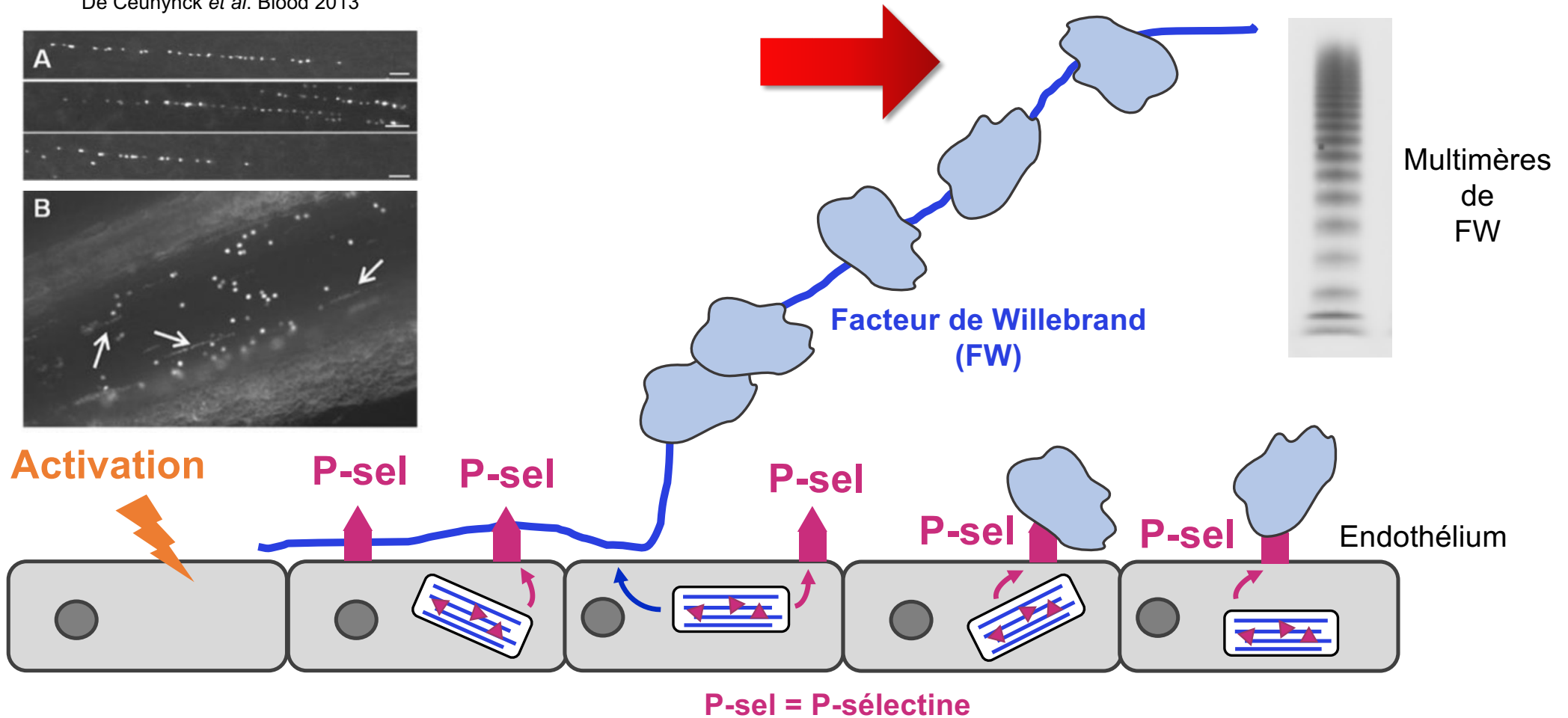
# L'endothélium activé déclenche l'accumulation de plaquettes

De Ceunynck *et al.* Blood 2013



# L'endothélium activé déclenche l'accumulation de plaquettes

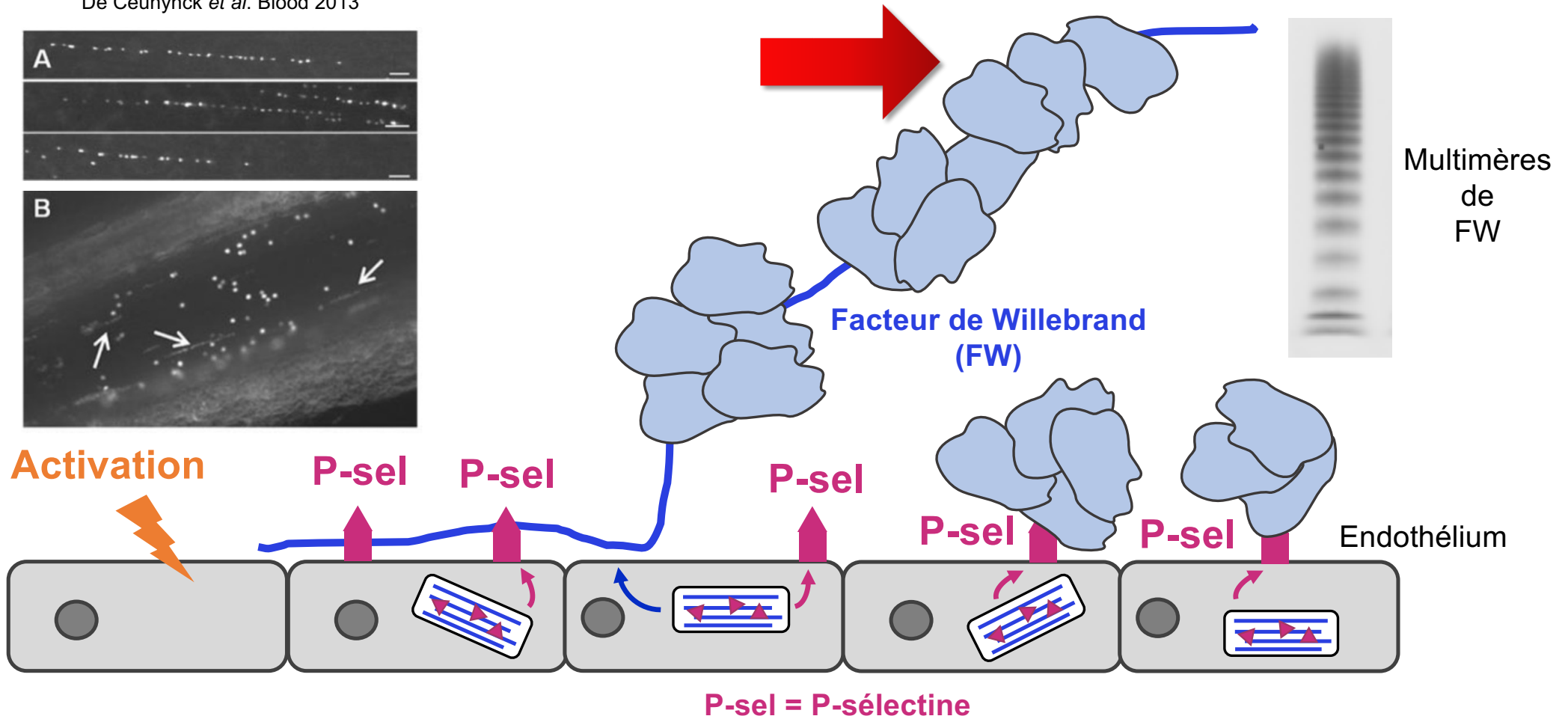
De Ceunynck *et al.* Blood 2013





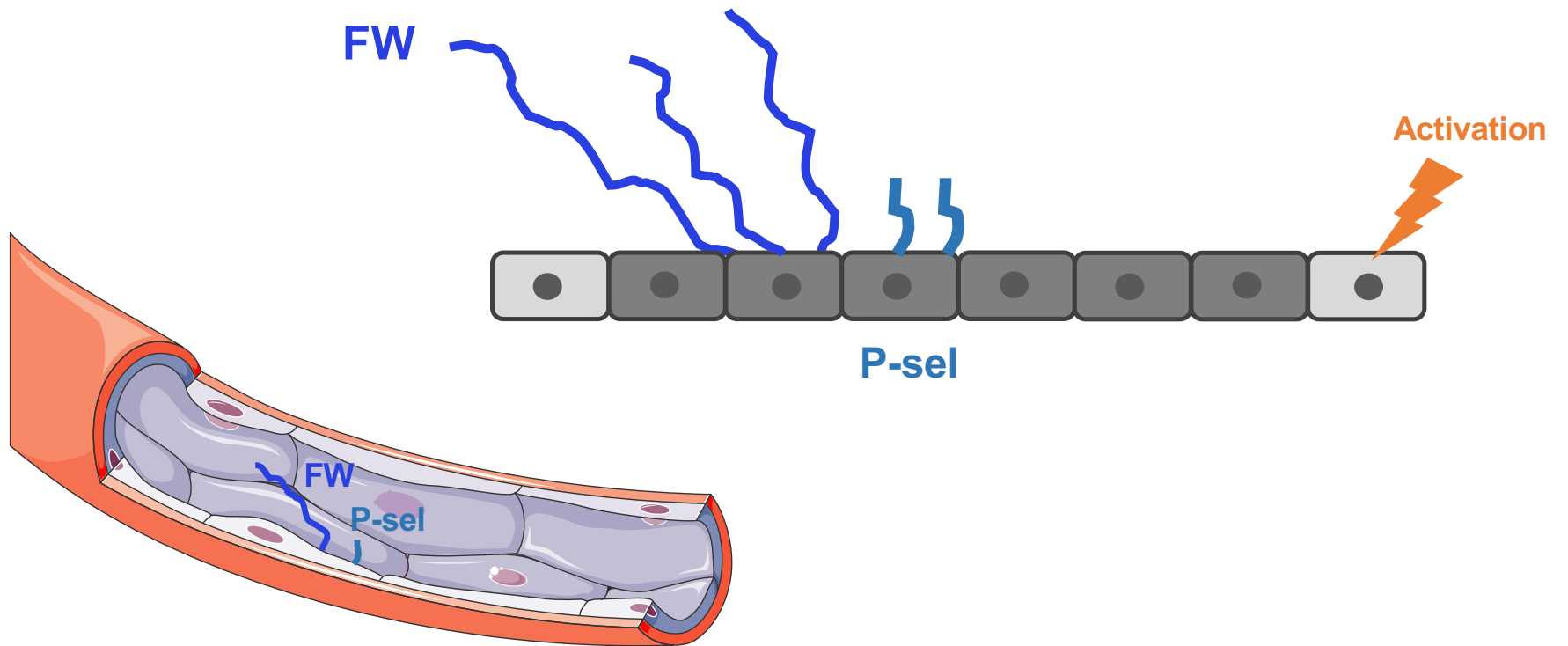
# L'endothélium activé déclenche l'accumulation de plaquettes

De Ceunynck *et al.* Blood 2013

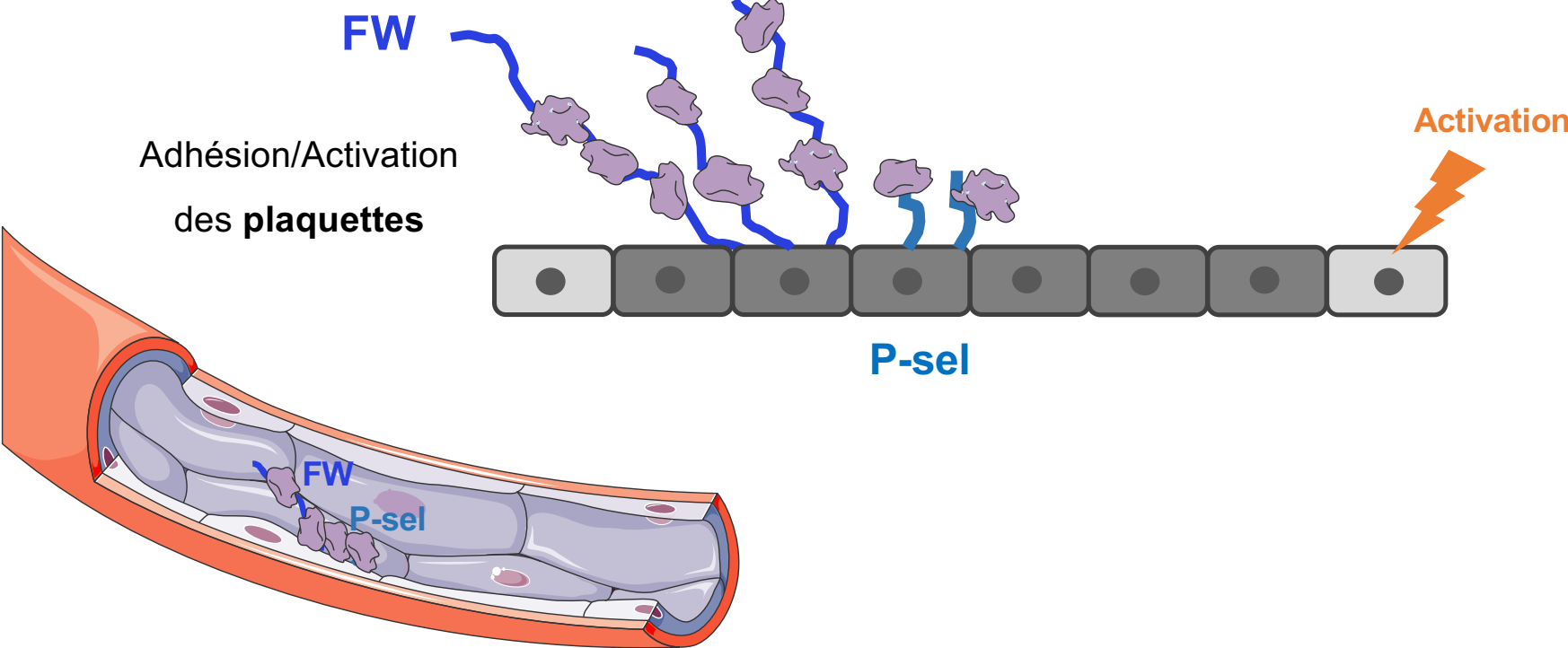


# Formation d'un caillot à la surface d'un endothélium activé

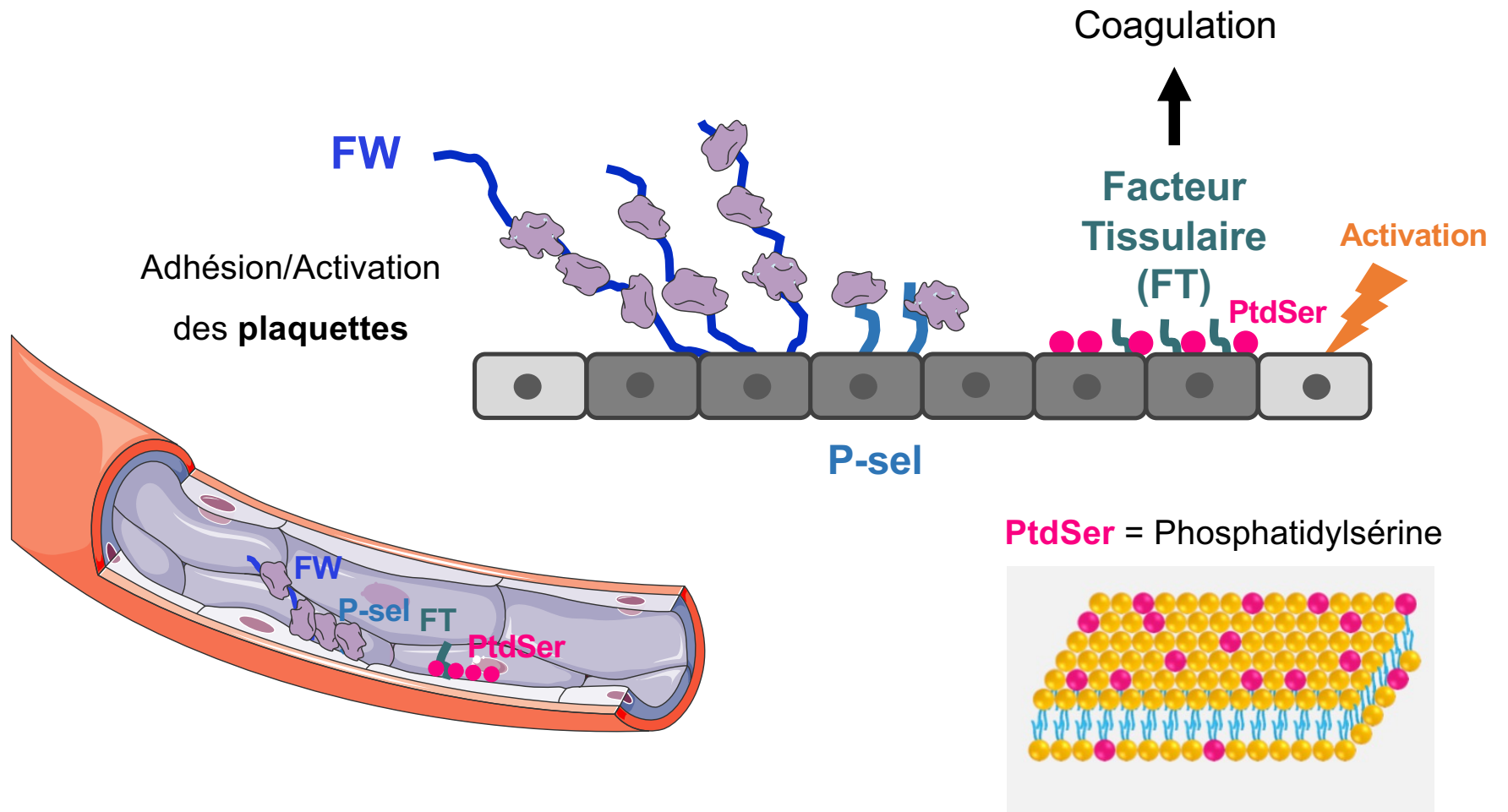
---



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

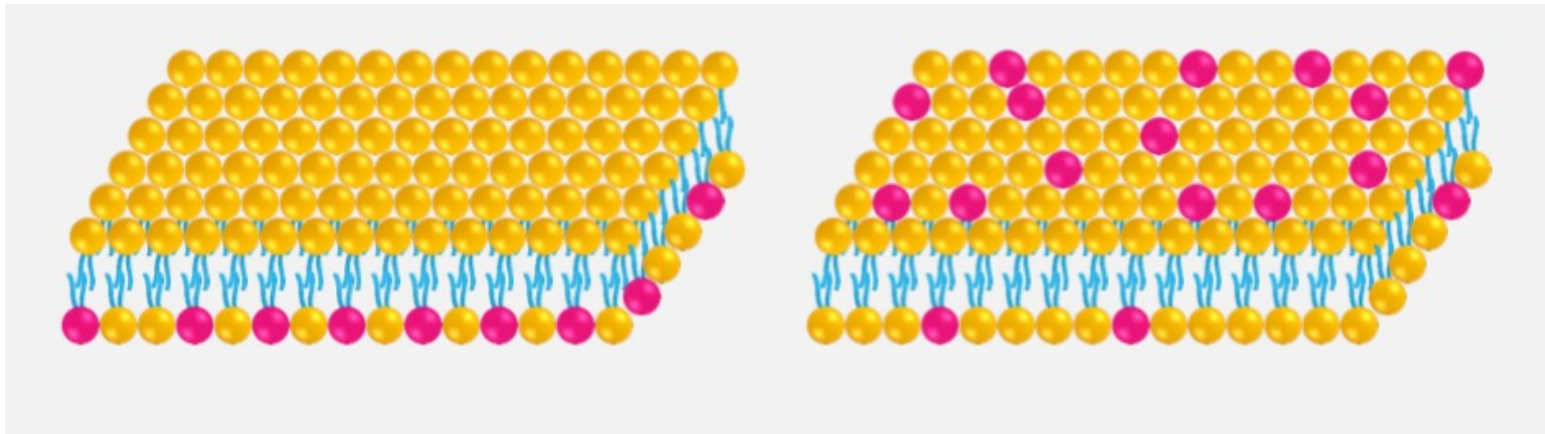


# Formation d'un caillot à la surface d'un endothélium activé



# Exposition de Phosphatidylsérine (PtdSer) par les CEs

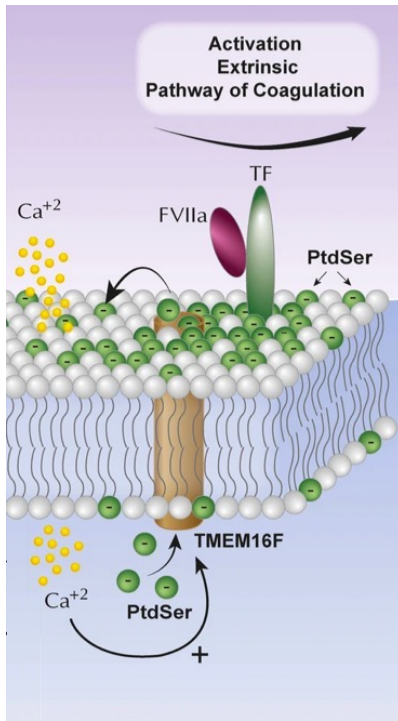
---



PtdCholine : phospholipide **neutre**

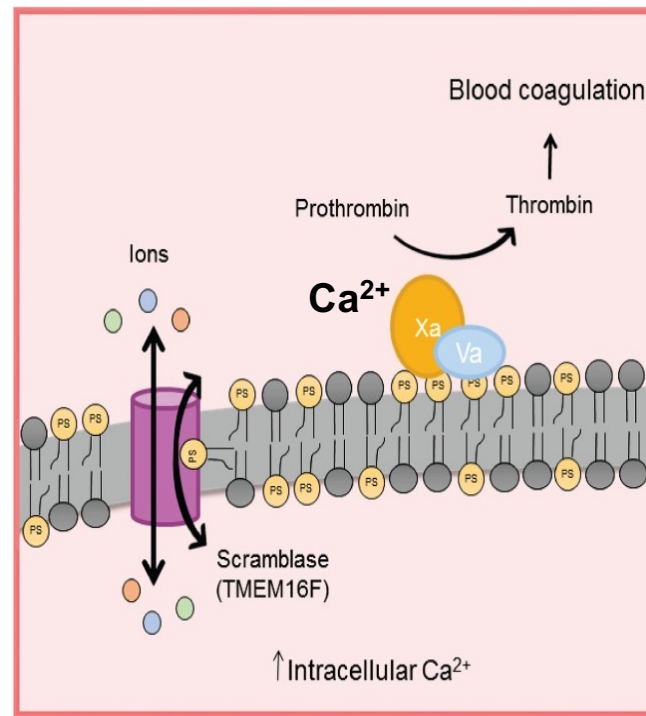
PtdSerine : phospholipide **chargé négativement**

# Effets procoagulants de l'exposition de PtdSer



**Activation** du FT  
(Stimule l'Initiation de  
la Coagulation)

+

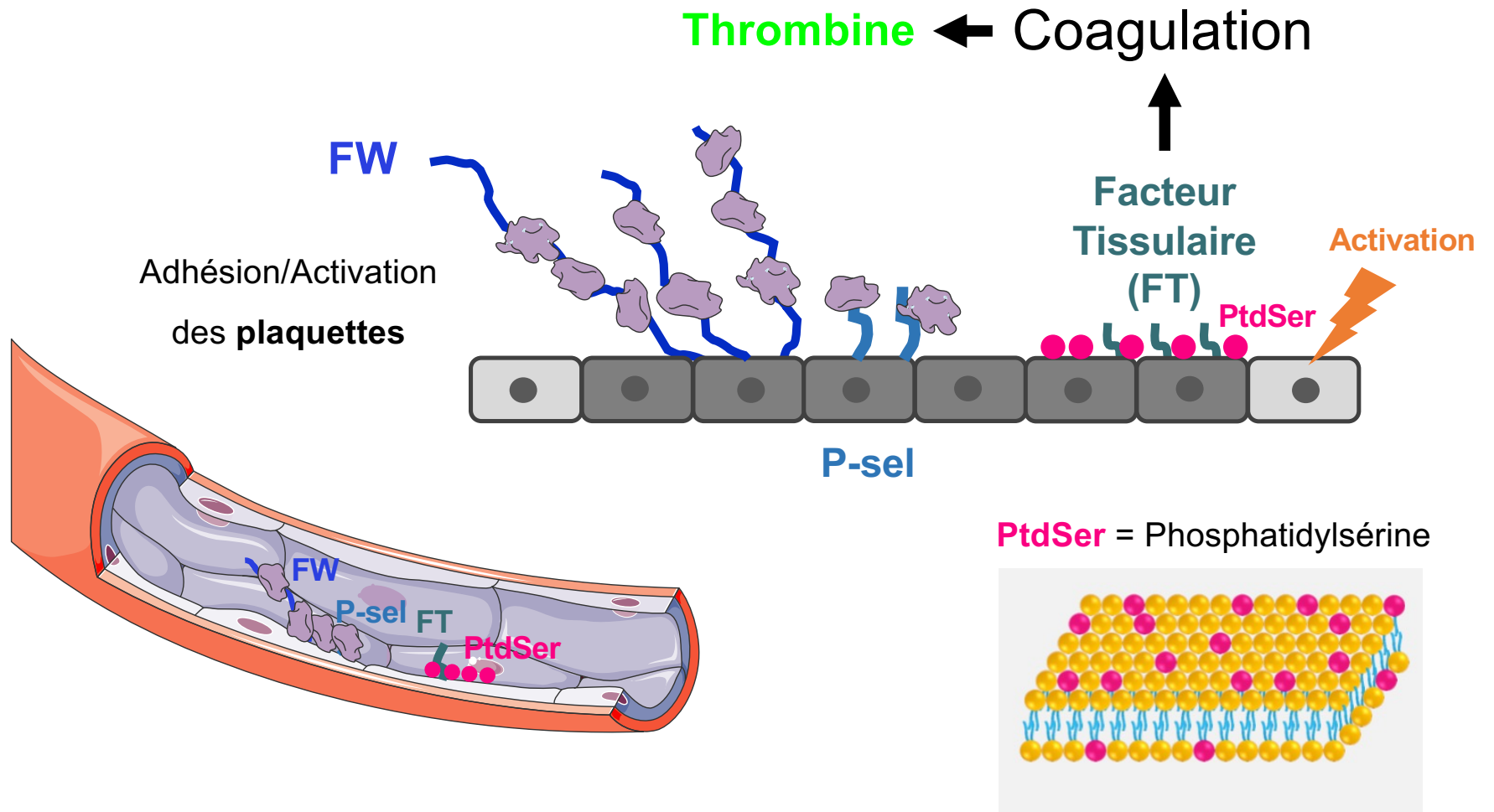


**Accélération** des réactions  
de la coagulation

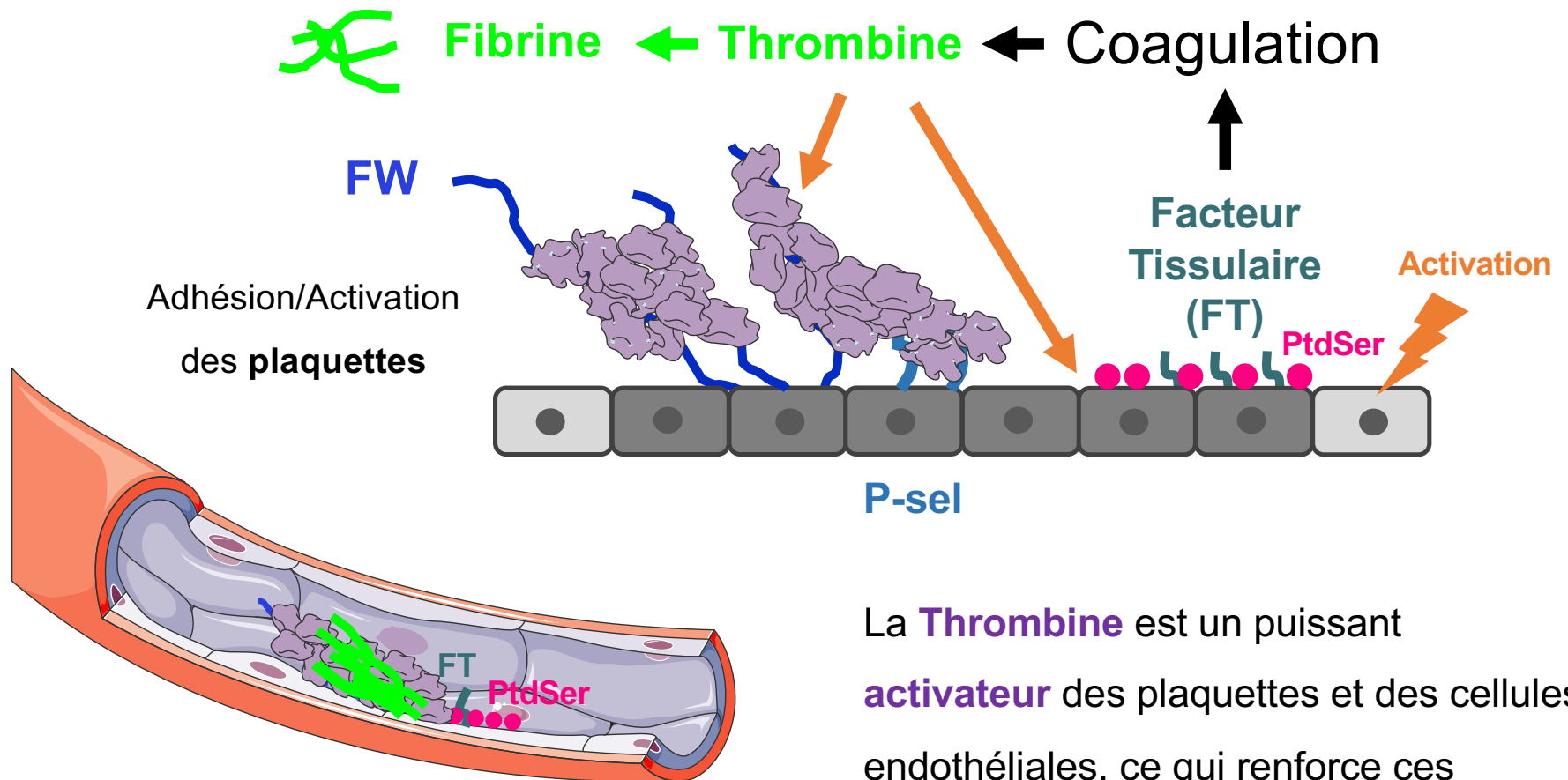
=

**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

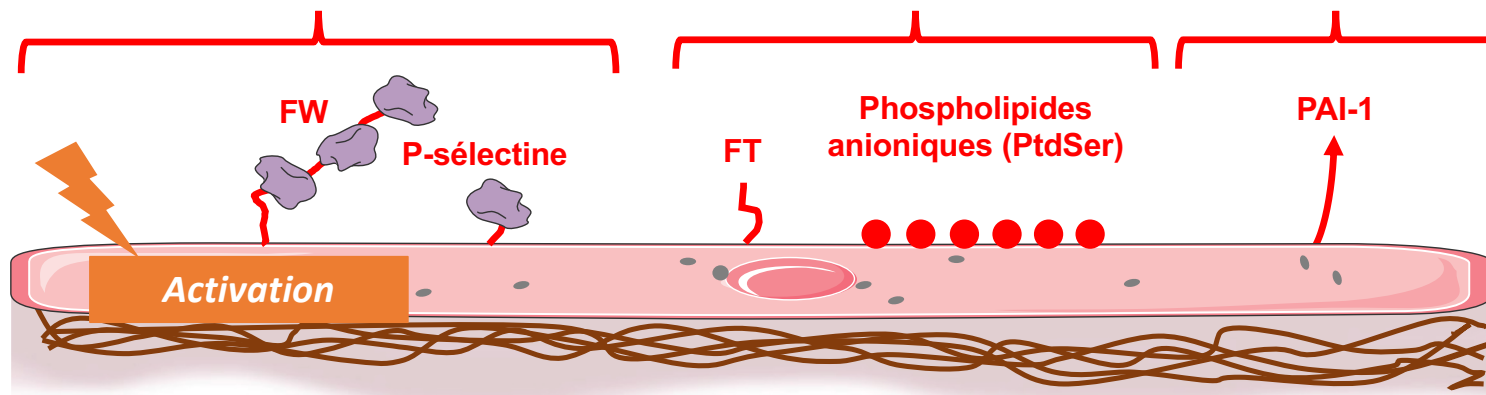


# L'endothélium activé est thrombogène

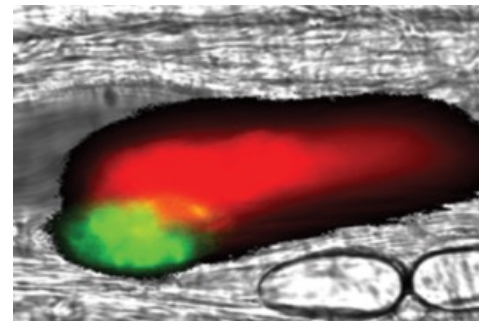
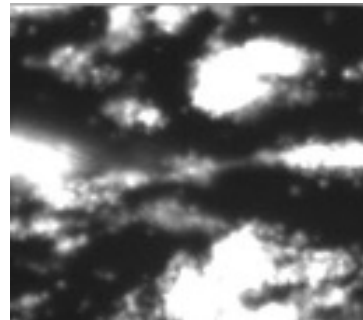
Stimulation de l'adhérence et de l'activation plaquettaires

Stimulation de la Coagulation

Inhibition de la Fibrinolyse

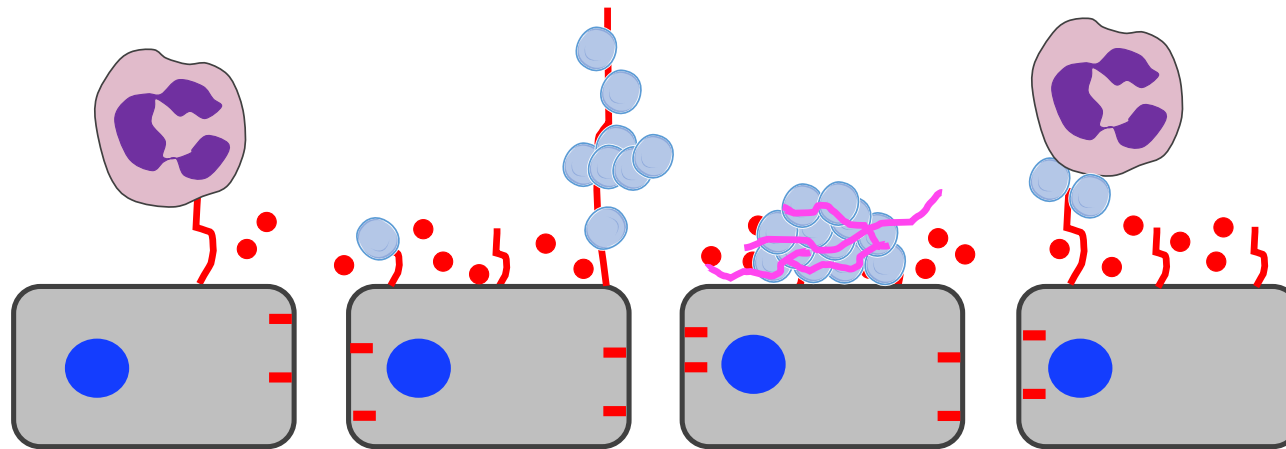


In vitro



In vivo

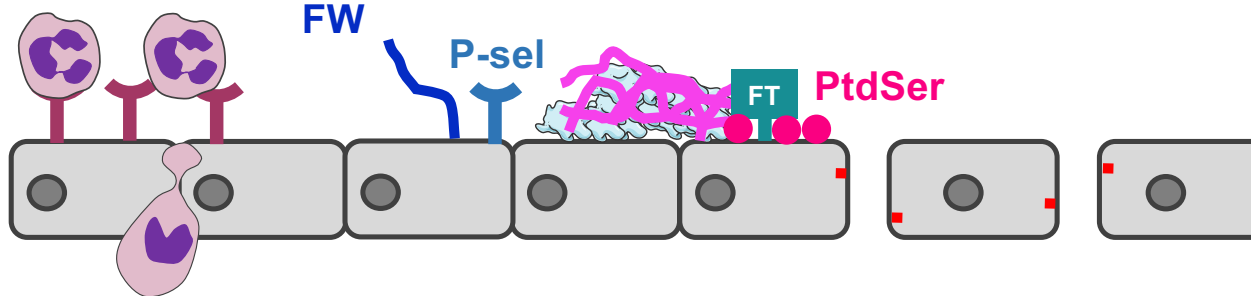
# Caractéristiques générales d'un endothélium **activé**



Un endothélium  
**activé**  
est

**Pro-Inflammatoire**  
**Prothrombotique**  
**Perméable**

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



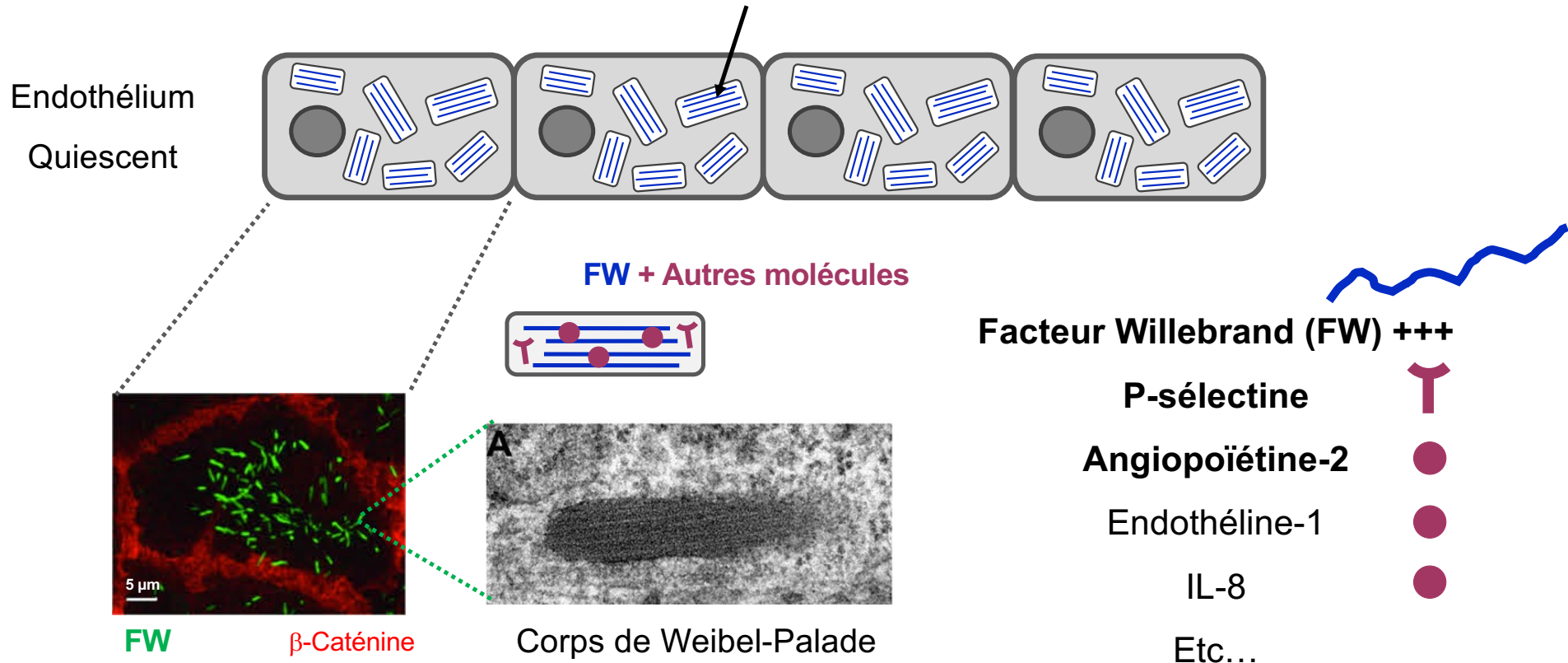
**Inflammation**

**Thrombose**

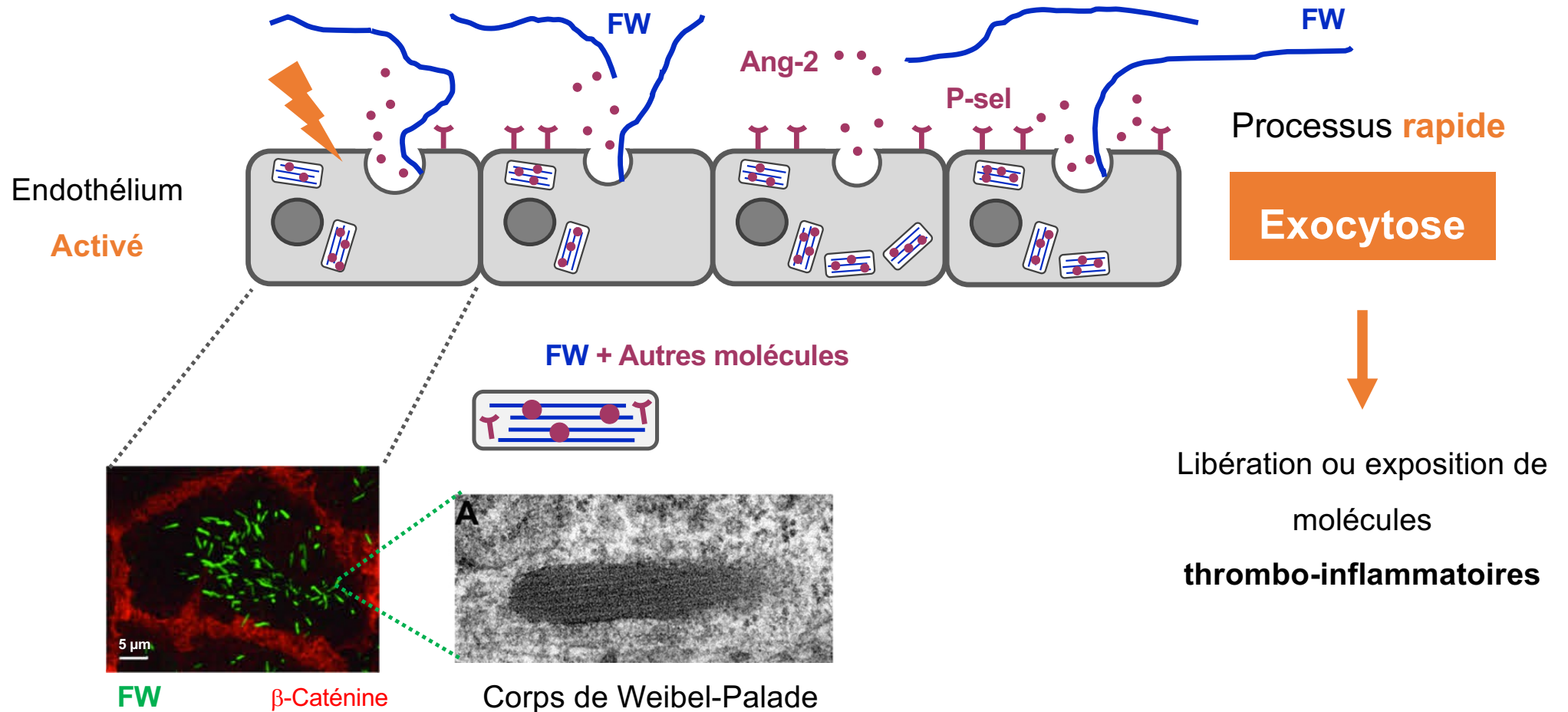
**Perméabilité**

# Réactivité +++ de l'endothélium vasculaire

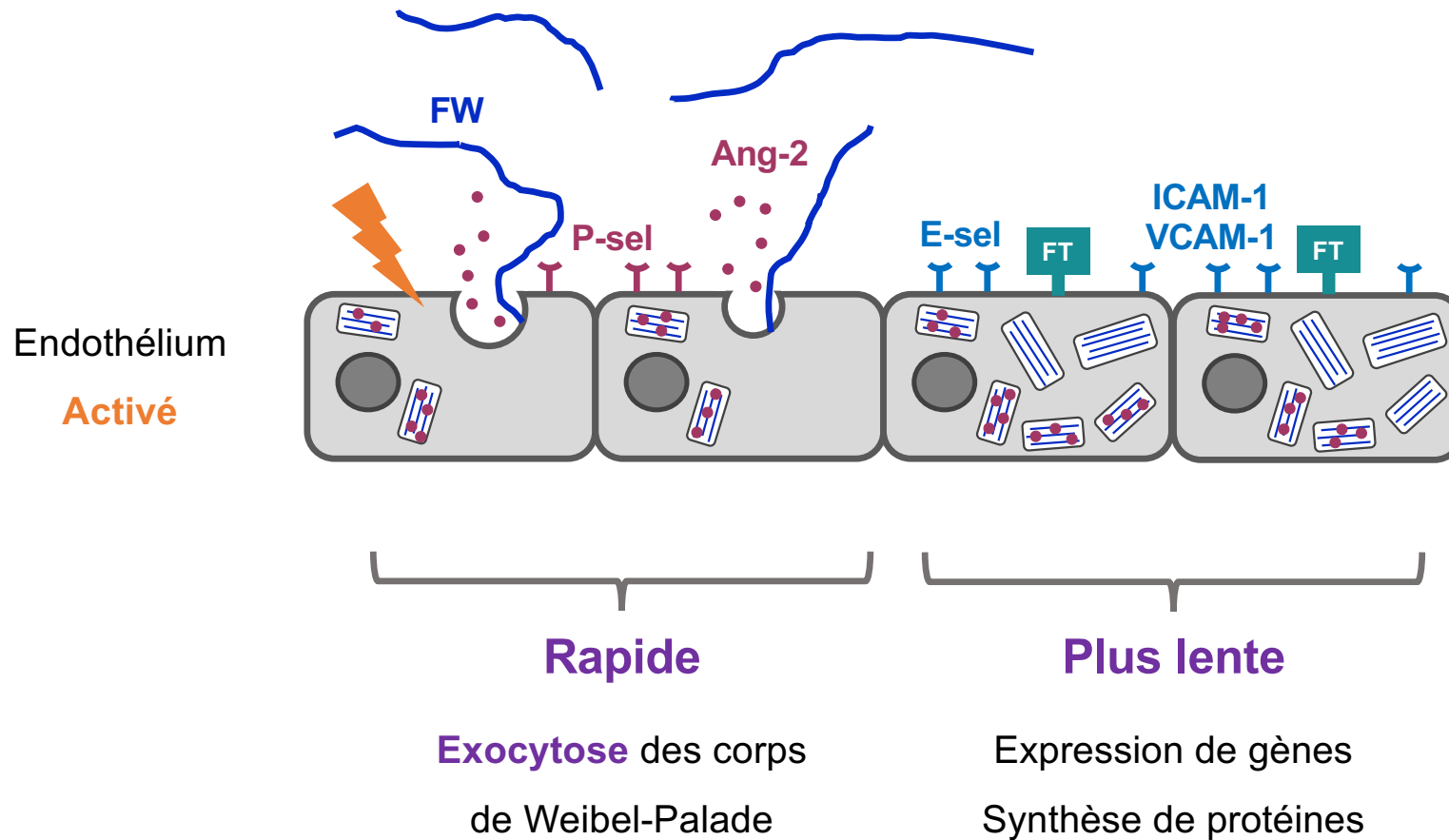
**Corps de Weibel-Palade** = Granule de stockage et de **sécrétion**



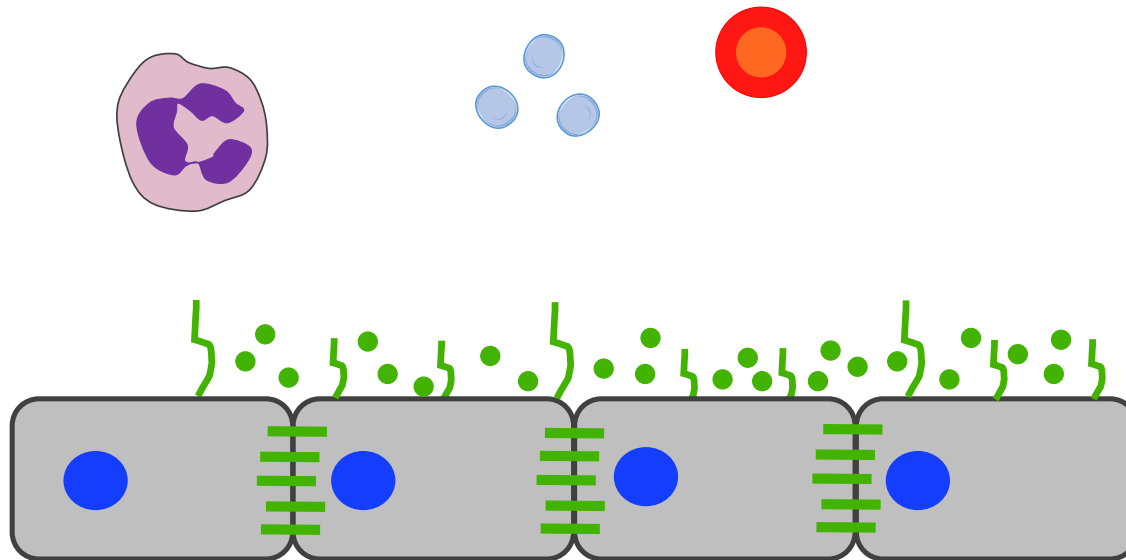
# Réactivité +++ de l'endothélium vasculaire



# Activation endothéliale



# Endothélium « quiescent »



Un endothélium

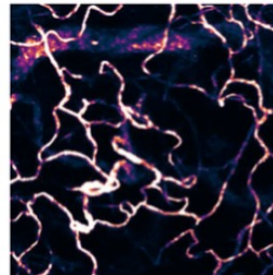
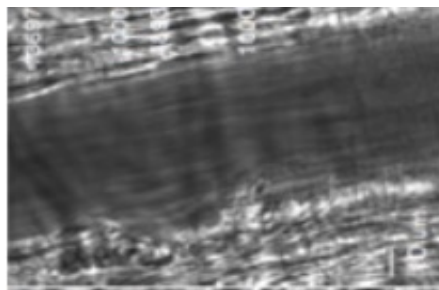
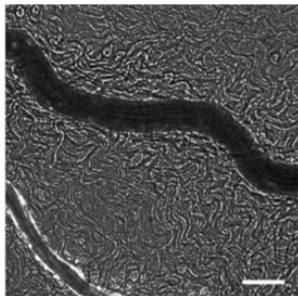
**quiescent**

est naturellement :

**Anti-Inflammatoire**

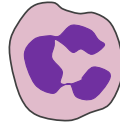
**Antithrombotique**

**Semi-Perméable**

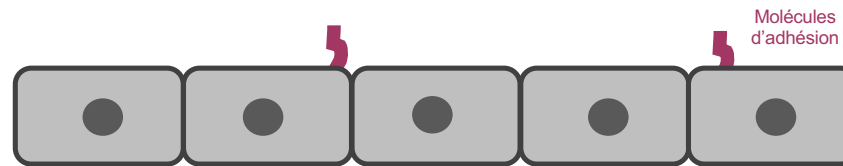


# L'endothélium est naturellement **anti-inflammatoire**

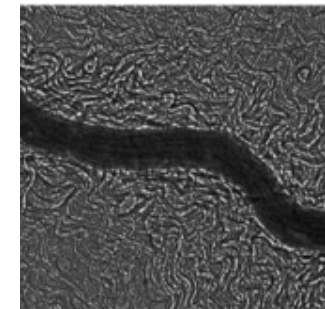
---



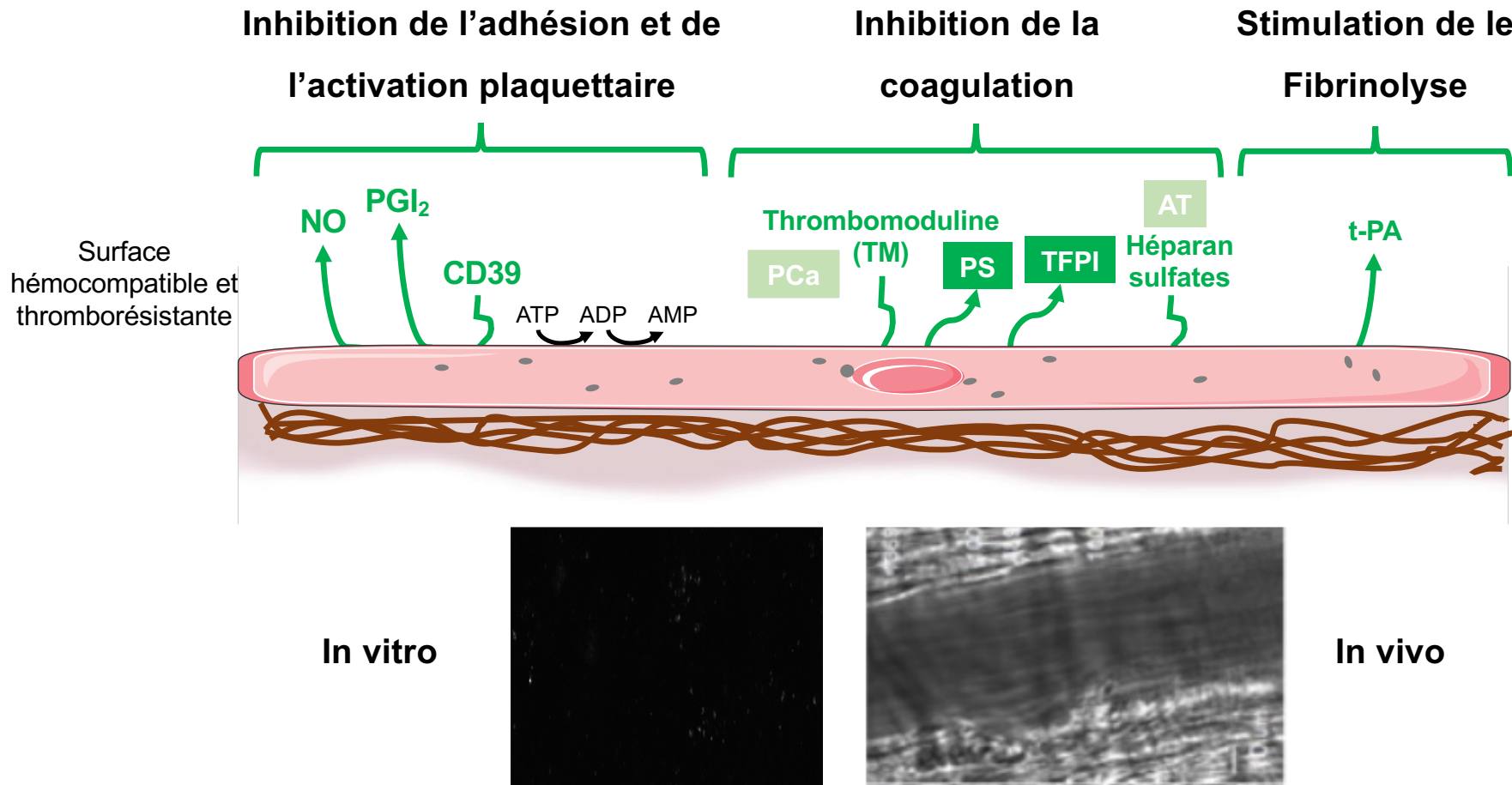
Pas ou très peu d'expression  
des **molécules d'adhésion**  
par un endothélium quiescent  
(non activé)



**Anti-Inflammatoire**



# L'endothélium est naturellement **antithrombotique**

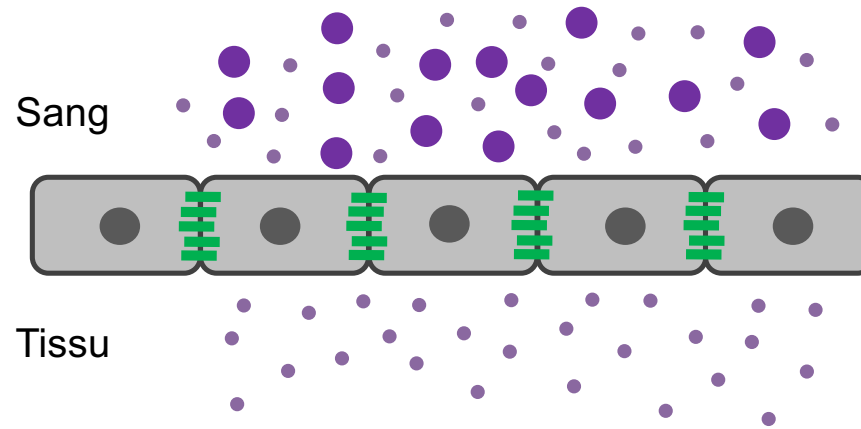
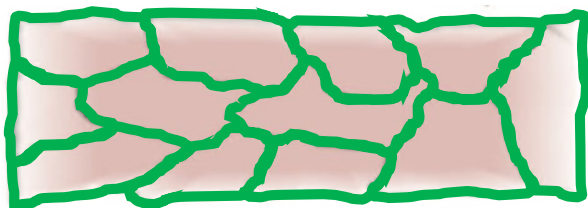




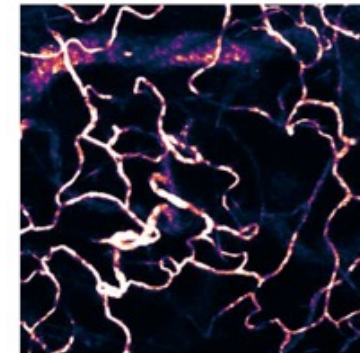
# L'endothélium est naturellement **semi-perméable**

**Expression** des protéines de jonctions endothéliales

**Maintien** de ces jonctions

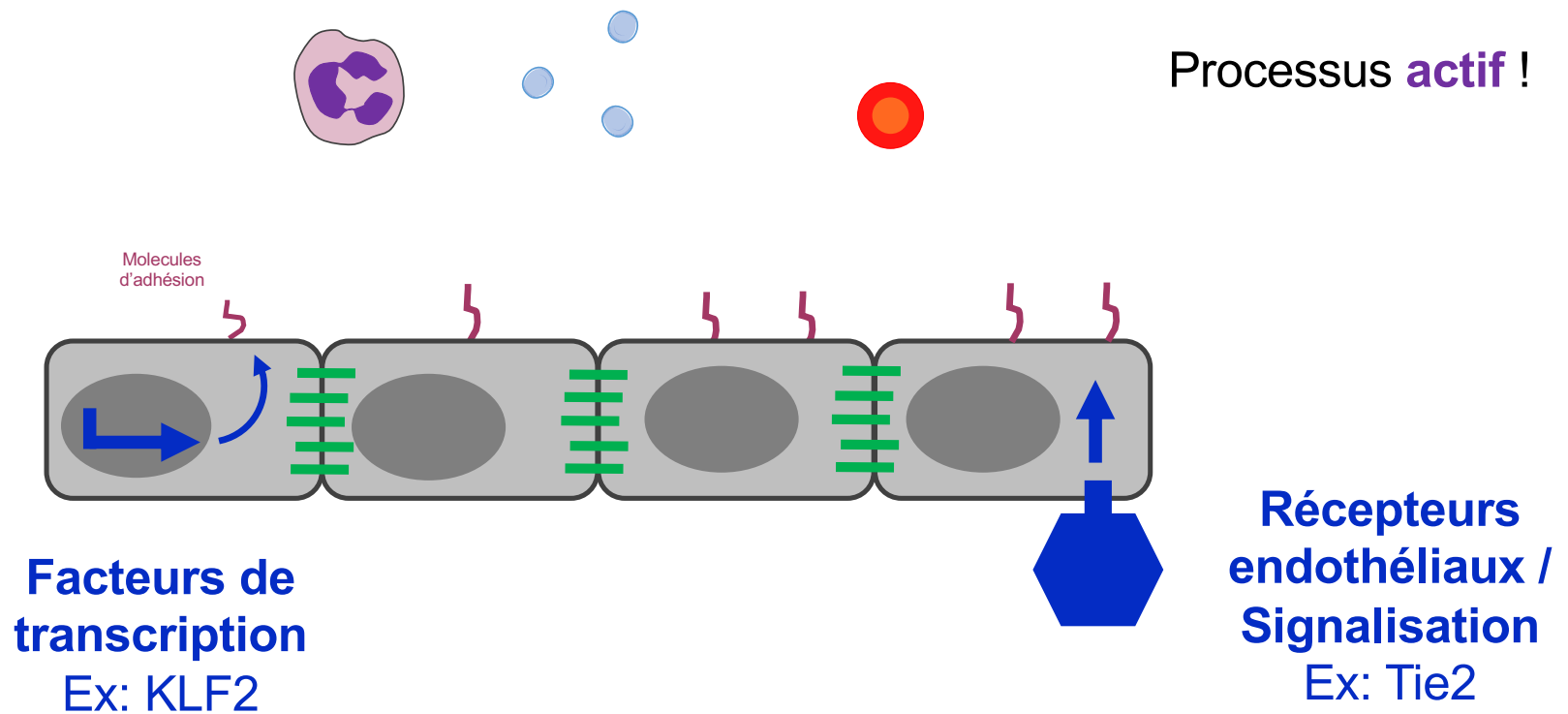


**Semi-Perméable**

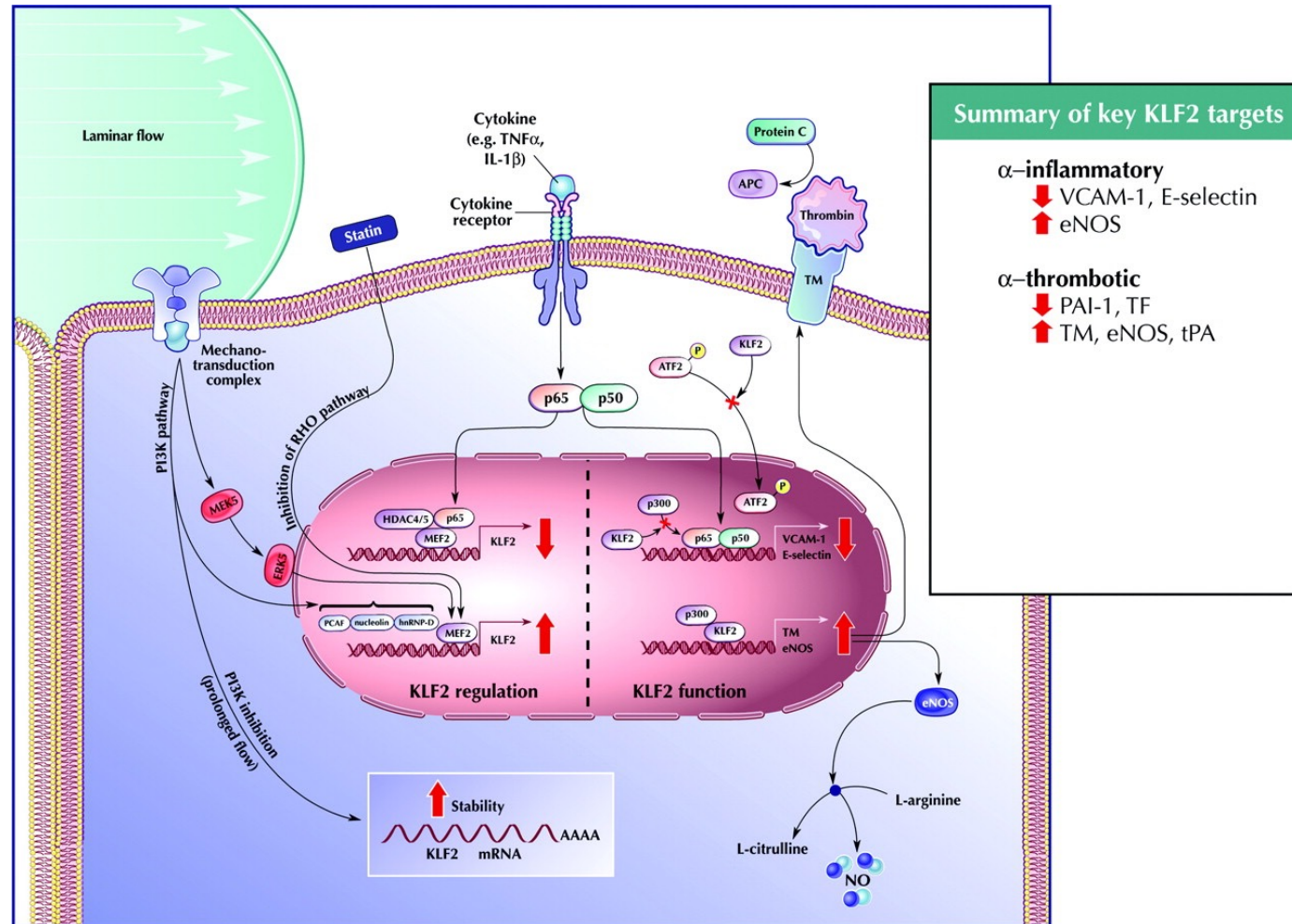


# Comment maintenir un état **quiescent** de l'endothélium ?

---

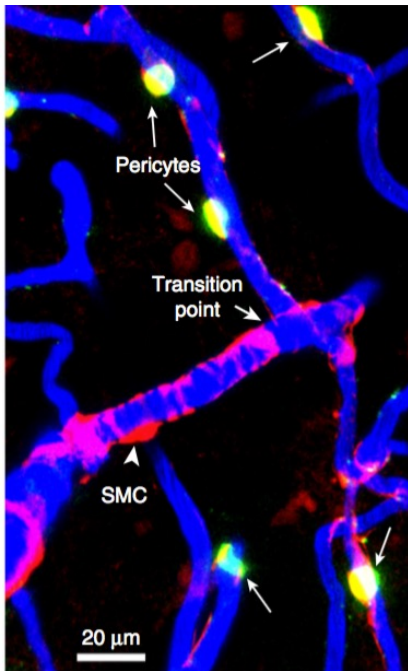


# Exemple de facteur de transcription : KLF2

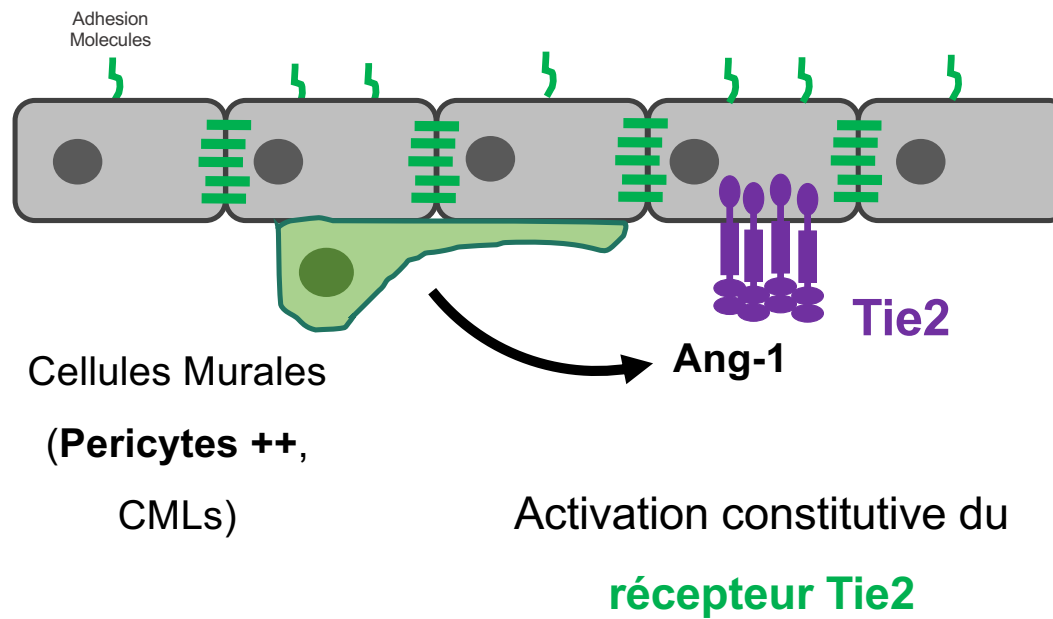


Atkins & Jain. Circ Res 2007

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



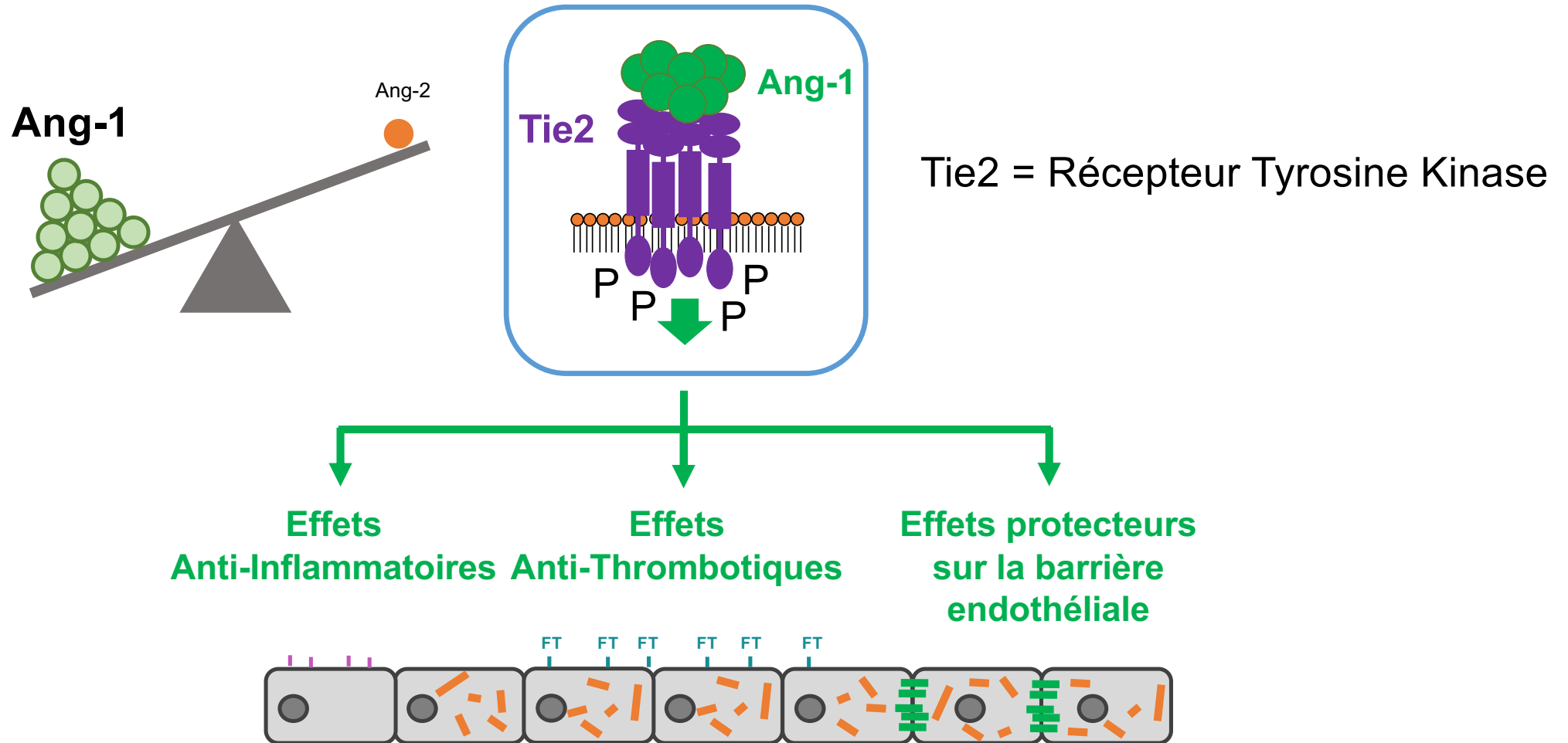
Un exemple de **récepteur/signalisation**  
assurant la quiescence endothéliale



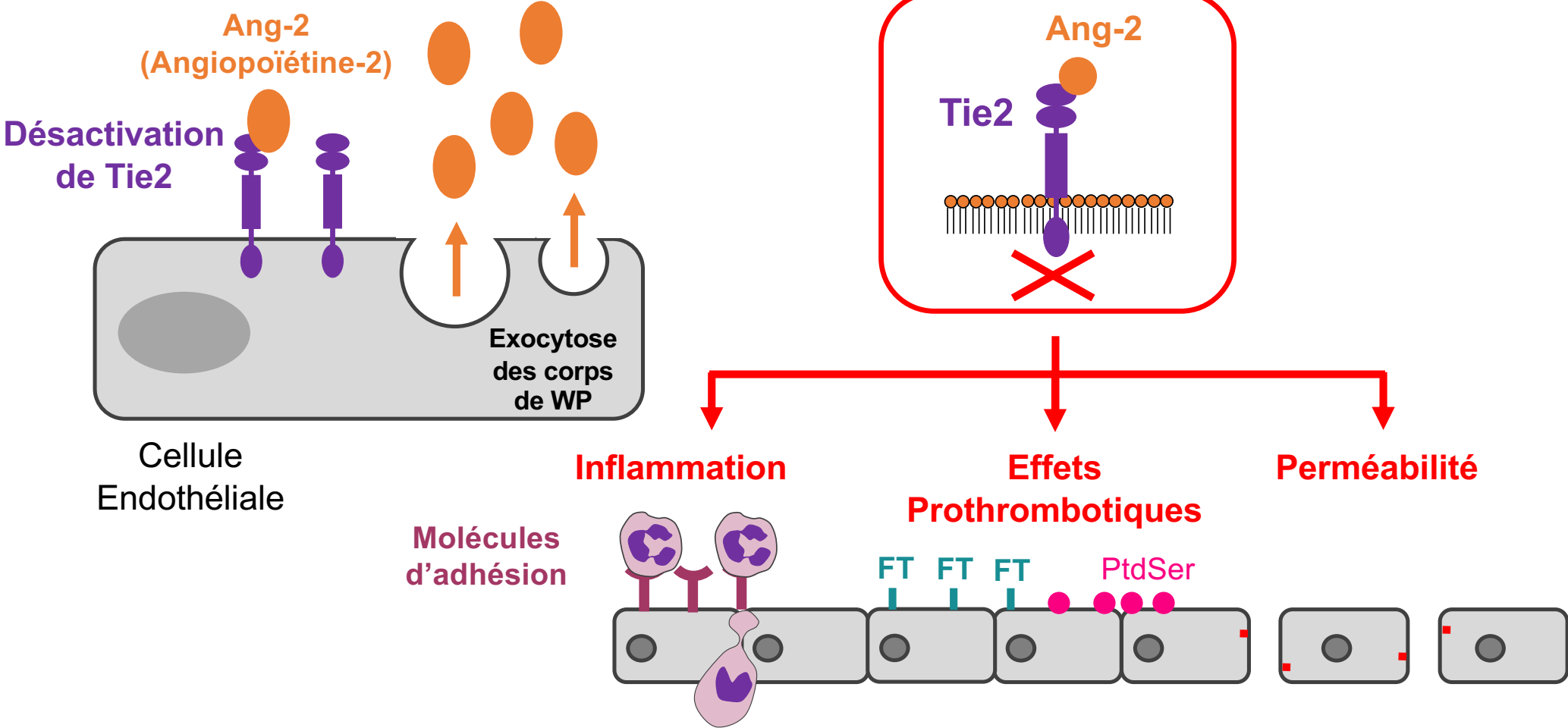
**Endothélium  
Quiescent**

- Anti-inflammatoire
- Antithrombotique
- Semi-perméable

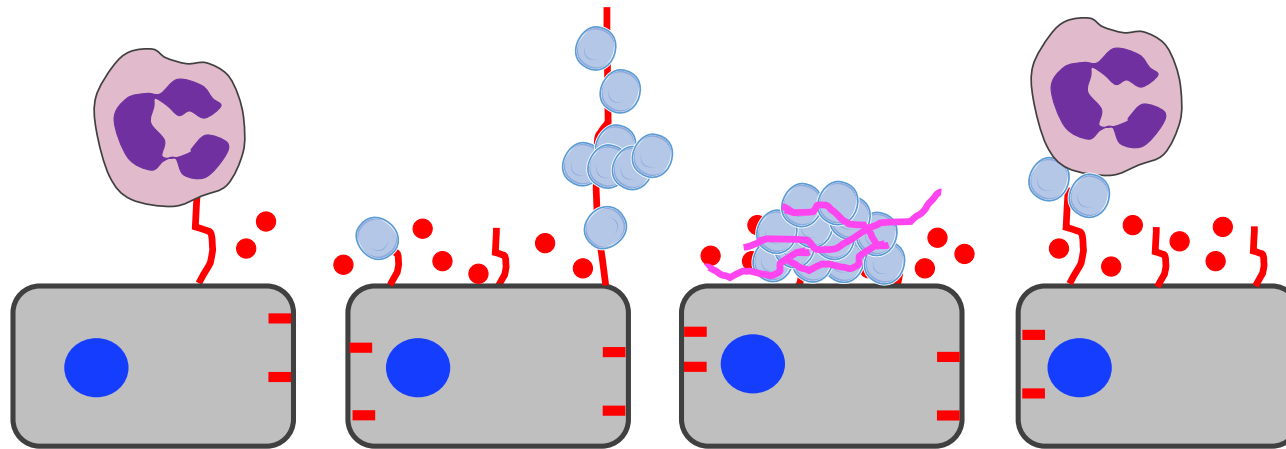
# La signalisation Tie2 induit la quiescence endothéliale



# Dérégulation de la signalisation Tie2 par l'Angiopoïétine-2



# Conséquences pathologiques de la dysfonction endothéliale

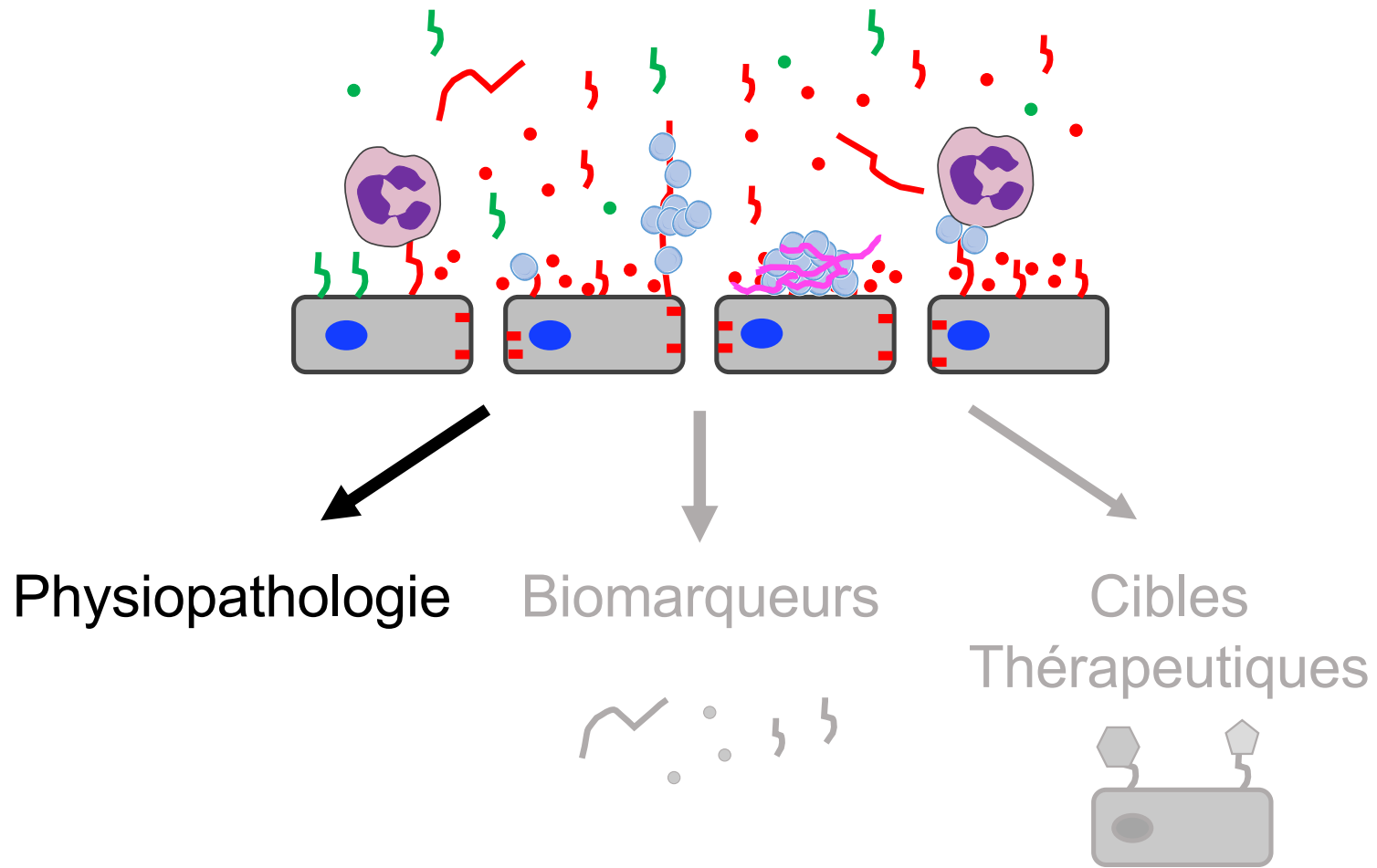


Aggrave ou déclenche  
des **pathologies**  
multiples

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

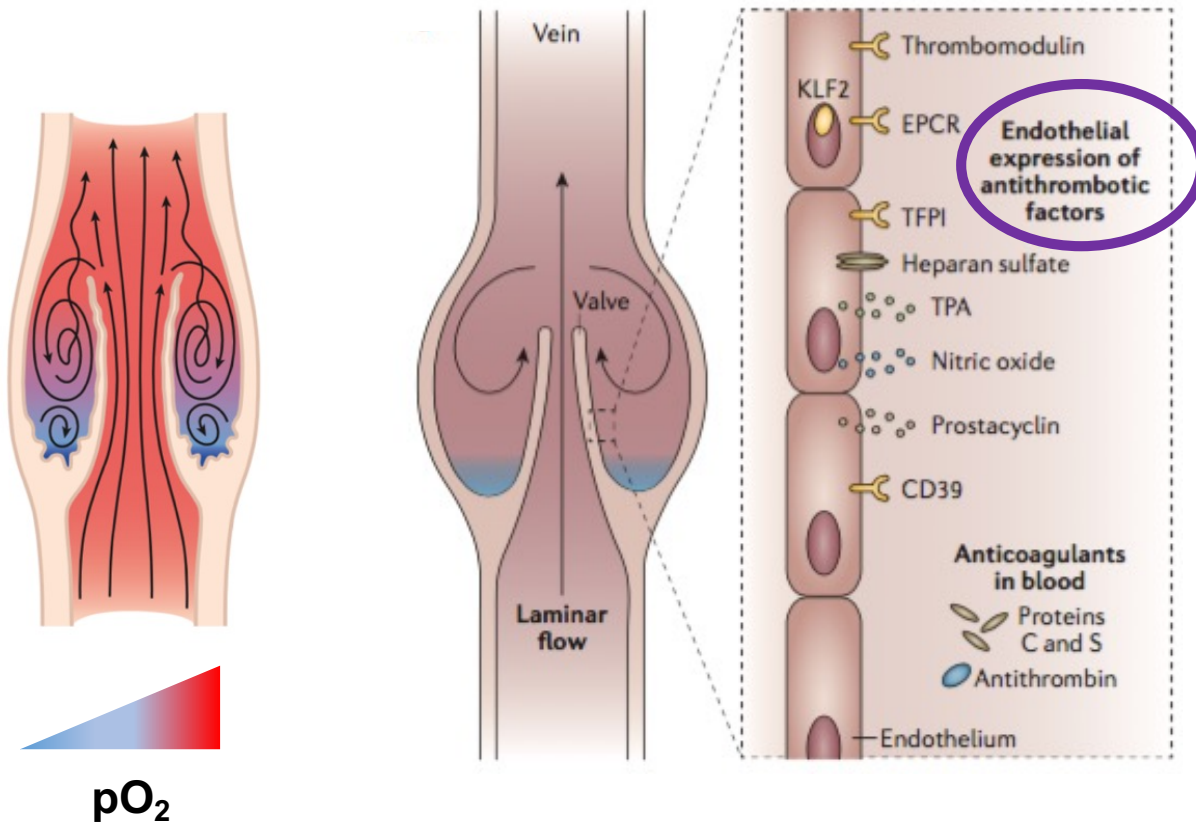
# Importance de la dysfonction endothéliale

---





# Physiopathologie de la thrombose veineuse



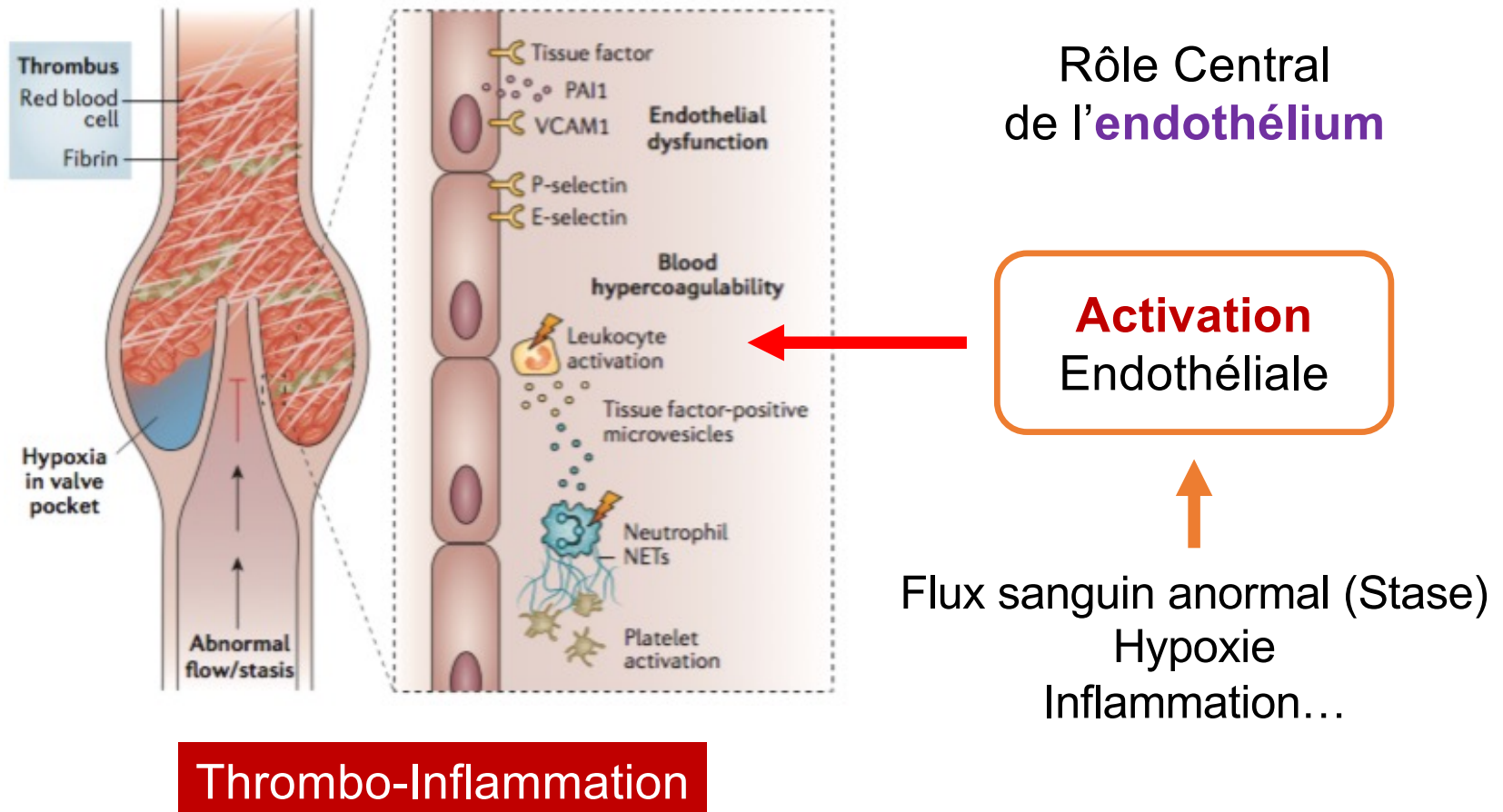
Rôle Central  
de l'**endothélium**

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



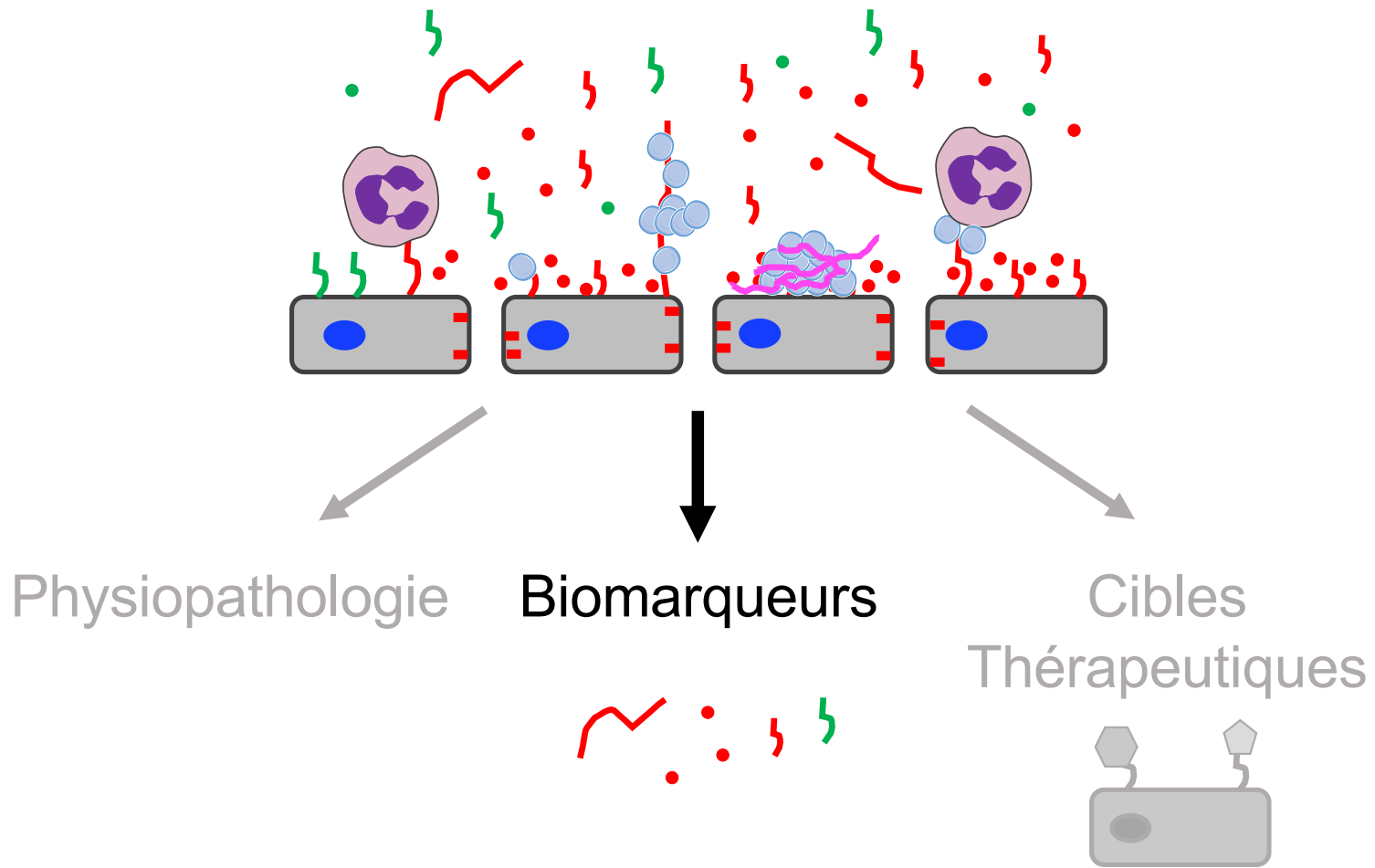
Endothélium  
« **Thromborésistant** »

# Physiopathologie de la thrombose veineuse

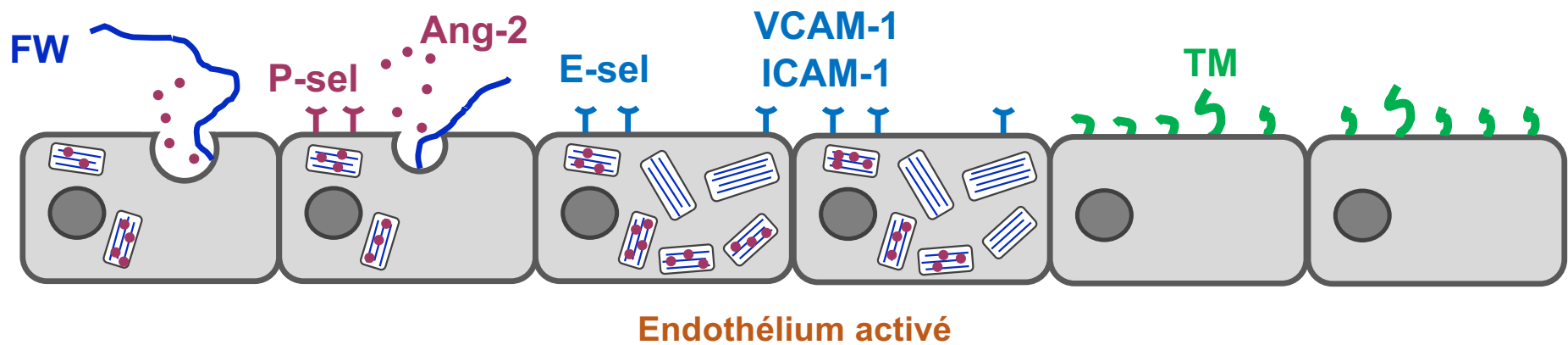
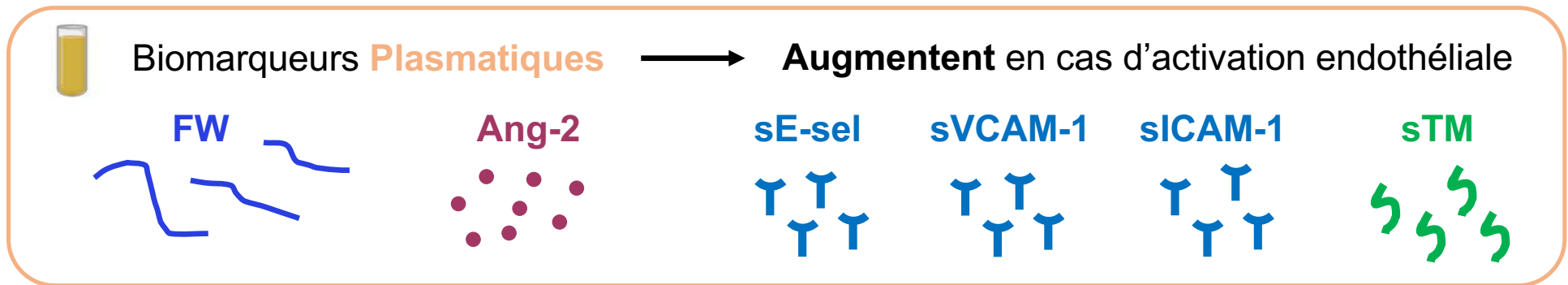


# Importance de la dysfonction endothéliale

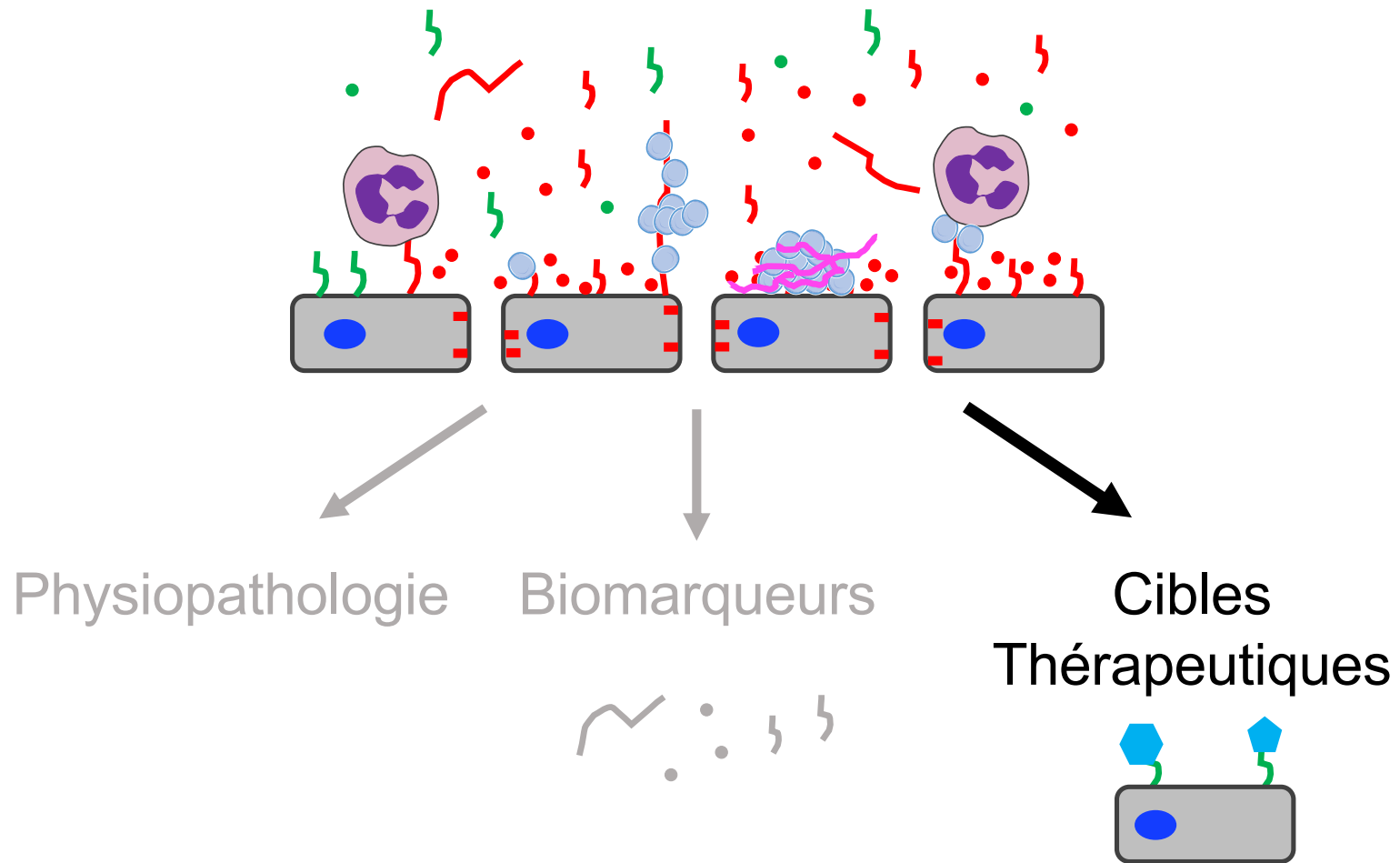
---



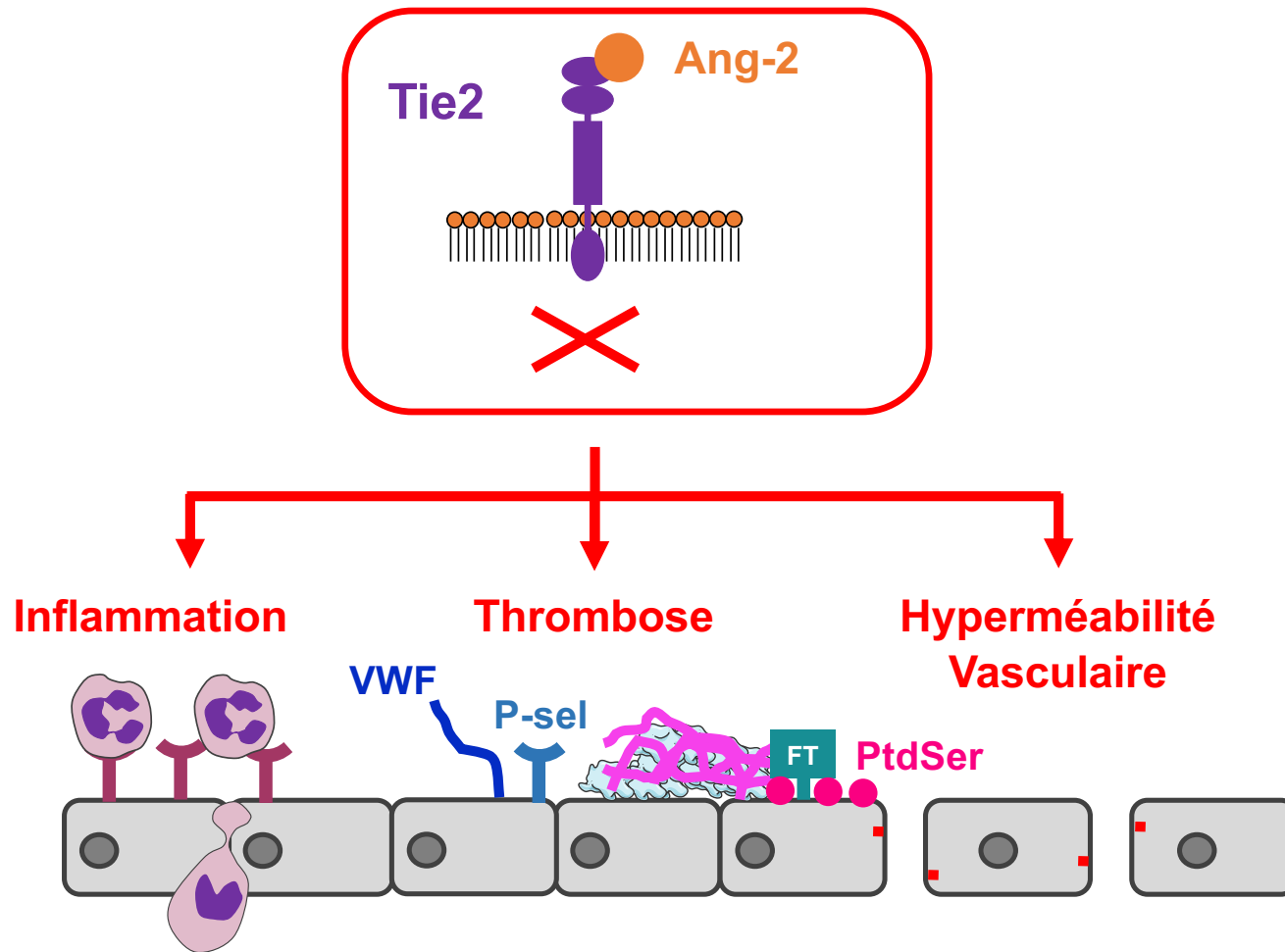
# Biomarqueurs de l'activation endothéliale



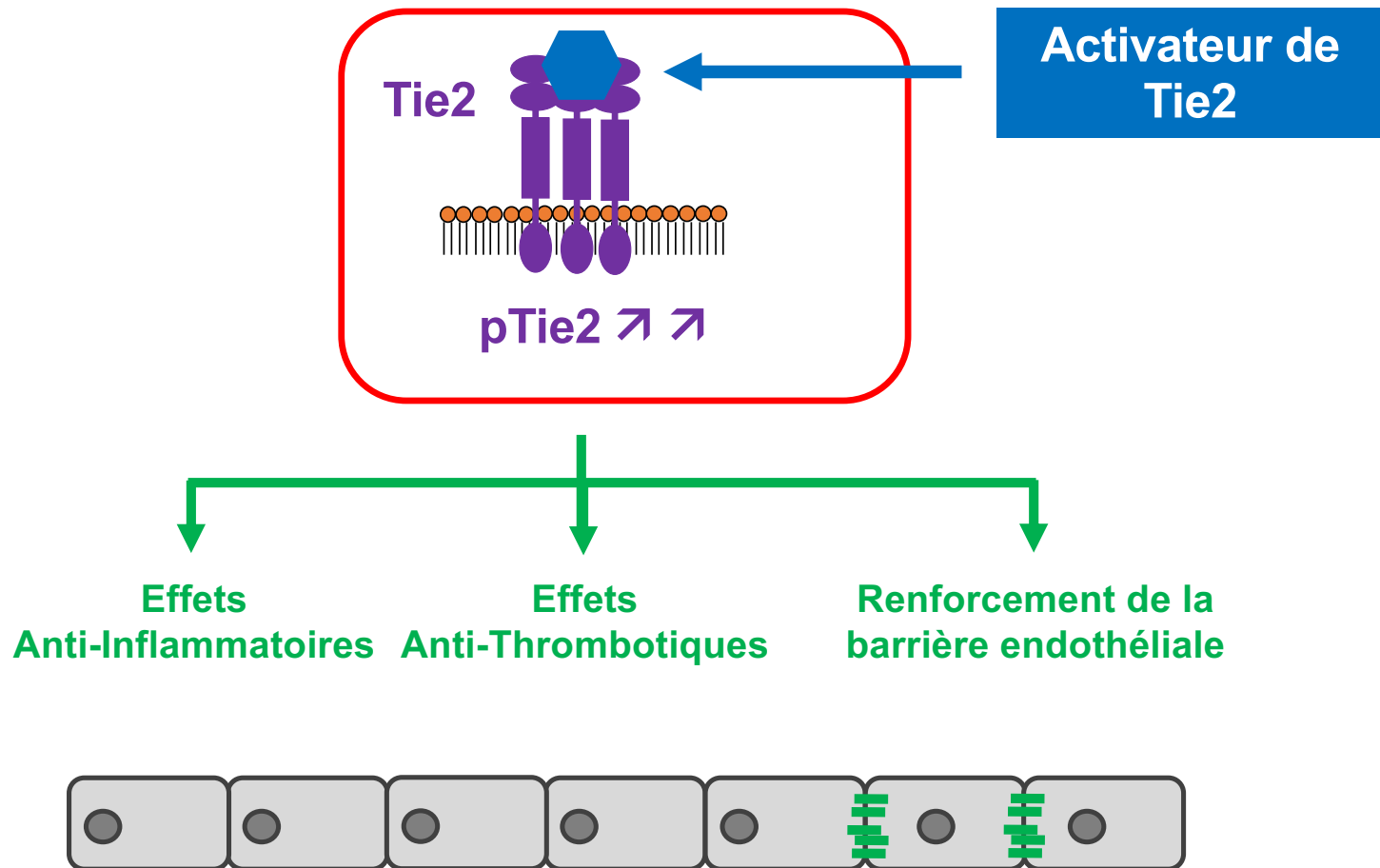
# Importance de la dysfonction endothéliale



# 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<sub>2</sub>) pour inhiber le processus d'adhésion et d'activation plaquettaires

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**