

Dr. A. CHEKIRI
Anatomo-Pathologiste

3^{ème} Année Médecine
Groupe : B9
A.U : 2010-2011

GENERALITES SUR L'ANATOMIE ET CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES

I- INTRODUCTION

L'anatomie et cytologie pathologiques ou pathologie est une spécialité médicale qui étudie les lésions provoquées par les maladies, ou associées à celles-ci, sur les organes, tissus ou cellules, en utilisant des techniques principalement fondées sur la morphologie macroscopique et microscopique ou par des techniques spéciales. (Du grec Pathos= Anomalie, logie= étude)

Définition d'une lésion : Les lésions sont des anomalies morphologiques intéressant des organes ou tissus, observées au cours d'une maladie et décelable par un moyen d'observation quelconque (macroscopie, microscopie ou autres....) = C'est une anomalie de la structure d'un organe, d'un tissu ou d'une cellule en rapport avec une agression.

La variation morphologique entre le normal et le pathologique définit la lésion → La démarche de l'anatomie pathologique est fondée sur une analyse qui compare les tissus normaux et les tissu pathologiques. Les lésions sont confrontées aux données cliniques, biologiques et d'imagerie : c'est la corrélation anatomoclinique qui est indispensable pour permettre une interprétation synthétique qui aboutit à un diagnostic.

Les causes des lésions sont variées :

- Anomalies génétiques constitutionnelles ou acquises,
- Agents infectieux (bactéries, virus, parasites, champignons),
- Agents chimiques (toxiques, médicaments, produits chimiques,....),
- Agents physiques (agression thermique, radiations modification de pression atmosphériques, traumatismes)
- Déséquilibres circulatoires, nutritionnels ou hormonaux.
- Troubles immunitaires innées ou acquis.

Le but de l'anatomie et cytologie pathologiques :

Le rôle de l'anatomie et cytologie pathologiques est de contribuer à :

- Elaborer le diagnostic par la démarche anatomoclinique : les lésions sont analysées et décrites dans un compte-rendu. Ce dernier comportera une conclusion qui affirme un diagnostic ou propose une hypothèse diagnostique.
- Préciser le pronostic en apportant des éléments utiles, en particulier dans le domaine de la pathologie tumorale.
- Evaluer l'effet des traitements : les examens anatomopathologiques sont renouvelés au cours d'un traitement afin de juger de la disparition, de la persistance ou de l'aggravation des lésions.

II- LES DIFFERENTS TYPES DE PRELEVEMENTS

A) Prélèvements cytologiques :

Les cellules isolées, ou les petits amas cellulaires, peuvent être obtenus de diverses façons :

- Recueil des liquides spontanément émis (urines, expectoration,....)
- Raclage, brossage, aspiration de cellules desquamant spontanément (col utérin, bronches, voies biliaires,....)
- Ponction à l'aiguille d'un liquide (épanchement pleural ou péritonéal, kyste, liquide céphalo-rachidien,...)
- Ponction à l'aiguille d'un organe ou d'une tumeur (ganglion, nodule thyroïdien ou mammaire) avec ou sans contrôle échographique ou scannographique.
- Apposition d'un tissu (pièce opération, biopsie) sur une lame = mettre en contact direct une partie de l'organe frais sur une lame.

B) Prélèvement tissulaires : Ils sont effectués selon trois modalités : la biopsie, les pièces opératoires et l'autopsie.

1- Biopsie : Elle consiste à prélever un fragment de tissu sur un être vivant. Par extension, ce terme peut désigner le fragment tissulaire.

La biopsie peut être effectuée selon plusieurs modalités :

- Par ponction ; à l'aide d'une aiguille coupante ou d'un trocart (pour le foie, rein, os....)
- Par biopsie chirurgicale : après anesthésie locale ou générale et sous contrôle de la vue : biopsie partielle, ou biopsie exérèses enlevant la totalité de la lésion.
- Au cours d'un examen endoscopique (pince montée sur l'endoscope)

2- Pièce opératoires : Les pièces opératoires correspondent à une exérèse partielle ou complète d'un ou de plusieurs organes, séparés ou adressés en même temps (en monobloc)

En cas de besoin (ex : recueil d'un liquide en dehors des heures d'ouverture d'un laboratoire), un liquide peut être provisoirement stocké dans un réfrigérateur à +4°C

- Apport et limites de la cytopathologie :

Le diagnostic cytopathologique *ne peut qu'orienter le diagnostic*, il permet le dépistage de lésions, c'est un apport complémentaire à l'étude histopathologique. Il doit être confirmé par un diagnostic histopathologique.

c) Techniques d'études des tissus (Histologie) :

La technique de base comporte plusieurs étapes : l'étude macroscopique, la fixation, l'imprégnation et l'inclusion, la confection de coupes et leur coloration.

1- L'étude macroscopique :

L'examen macroscopique détaillé est une partie essentielle de l'étude d'une pièce opératoire : la pièce est examinée, mesurée, pesée, palpée puis disséquée. Chaque lésion est repérée sur un schéma et éventuellement photographiée. Une description très analytique de la pièce et de la lésion doit être faite, faisant ressortir plusieurs éléments essentiels (le type de pièce, les dimensions, la consistance, la couleur, la forme).

Le chirurgien devrait toujours adresser la pièce avec des indications de repérage topographique.

Il peut être utile de marquer les berges d'une pièce de résection de tumeur avec de l'encre indélébile. Ceci ne nuit pas à l'étude histologique et permet d'apprécier exactement la distance entre la tumeur et la limite chirurgicale de la pièce.

L'examen macroscopique donne des indications pour le pronostic de la maladie (notamment la taille et la localisation d'un cancer) et permet de sélectionner les territoires à prélever pour l'étude microscopique.

C'est une étape importante, elle peut suggérer un diagnostic → Cependant, le diagnostic de certitude reste l'étude microscopique.

2- Fixation :

La fixation est indispensable pour conserver la morphologie cellulaire telle qu'elle était avant le prélèvement, elle doit être immédiate. Toute fixation défectueuse rend l'étude anatomopathologique difficile voir impossible (dessiccation et/ou autolyse du tissu).

Trois précautions doivent être prises :

- Le volume du fixateur doit représenter environ 10 fois le volume de la pièce.
- Le récipient doit être de taille suffisamment grande pour prévenir les déformations des pièces opératoires volumineuses.

3- Autopsie : L'autopsie (ou nécropsie) correspond à un examen anatomopathologique d'un fragment tissulaire, un ou plusieurs organes obtenus à partir d'un cadavre. Son but est de trouver la cause scientifique du décès, ou d'expliquer les mécanismes aboutissant au décès par analyse des lésions morphologiques retrouvés.

III- LES DIFFERENTES ETAPES TECHNIQUES POUR L'ANALYSE ANATOMOCYTOPATHOLOGIQUE D'UN PRELEVEMENT :

a) Réception et enregistrement :

Lorsqu'un prélèvement parvient au laboratoire, il est enregistré et reçoit un numéro d'identification unique. Celui-ci sera retranscrit sur les blocs de paraffine et sur les lames, qui seront examinées au microscope après le traitement technique du prélèvement.

Chaque prélèvement doit être accompagné d'une fiche de renseignement remplie par le médecin prescripteur qui doit mentionner :

- L'identité du patient : nom, prénom, âge et sexe.
- Le siège, la date et la nature du prélèvement.
- Les circonstances cliniques et paracliniques qui ont motivé le prélèvement et éventuellement des hypothèses diagnostiques.
- L'aspect macroscopique ou endoscopique des lésions.
- Les antécédents médicaux et/ou chirurgicaux du patient.

b) Techniques d'études en cytopathologie :

- Étalement des cellules sur des lames de verre :
L'étalement est fait par le préleveur lors des cytoponctions d'organes, des frottis, écouvillonnage, brossages ou appositions. Ce geste simple doit être bien maîtrisé pour éviter un écrasement des cellules, ou des amas, en plusieurs couches peu interprétables.
- Centrifugation et étalement du culot cellulaire :
Elle se fait en cas d'étude cytologique sur un liquide (naturel, ou d'épanchement, ou de lavage). Ce liquide sera centrifugé (2000 tours/min pendant 10 minutes). On prélève le culot cellulaire obtenu et on l'étale par la suite sur des lames de verre.
- Fixation des étalements :
Elle se fait soit par simple séchage à l'air pour la coloration de May-Grünwald-Giemsa (MGG), soit par immersion dans un mélange Alcool-éther, ou par application d'un cytospray ou un laque fixante pour les colorations de Harris-Schorr ou de Papanicolaou (ex : Frottis cervico-vaginaux)

Afin d'éviter l'altération des cellules par autolyse, la fixation, la centrifugation et la coloration cytologique doivent être effectués rapidement après l'obtention du prélèvement.

- Avant fixation, les organes creux (tube digestif, vésicule biliaire, utérus,....) doivent être ouverts et si nécessaire lavés de leur contenu afin de prévenir l'autolyse des muqueuses. Les organes pleins doivent être coupés en tranches pour faciliter la pénétration rapide et homogène du fixateur.

La durée de la fixation : dépend de la taille du prélèvement : au minimum 2 à 5h pour une biopsie et peut aller jusqu'à 48h pour une pièce opératoire.

La nature du fixateur : le fixateur le plus habituellement utilisé est le formol à 10% tamponné (déjà prédilué à 40%) → pour 10cc de formol, on rajoutera 90cc d'eau. Il est à rappeler que le liquide de Bouin est actuellement contre-indiqué pour la fixation des prélèvements, car il entraîne la destruction des sites antigéniques des tissus → ne permet pas d'effectuer certaines techniques complémentaires (ex : immunohistochimie)

3- Imprégnation et Inclusion en paraffine :

Les prélèvements après l'examen macroscopique, sont déposés dans des cassettes en plastique. Ces cassettes vont passer dans plusieurs bains d'alcools à concentration variable pour déshydrater les prélèvements. L'alcool est éliminée par des solvants (xylène) ; puis la paraffine liquide à 56°C imprègne les tissus et sera refroidie. Ces étapes sont automatisées dans des appareils à inclusion.

L'étape finale de l'inclusion est manuelle et consiste à réorienter le fragment tissulaire dans le sens de la coupe dans un moule de paraffine → obtention d'un bloc solide de paraffine.

4- Coupes et colorations :

Le bloc solide de paraffine contenant le tissu est coupé grâce à un microtome les coupes de 3 à 5 microns d'épaisseur sont étalées sur des lames. Après dissolution de la paraffine, puis réhydratation, le tissu est coloré.

La coloration usuelle est (Hématéine, Eosine= H.E)

Hématéine → colore le noyau en bleu
Eosine → colore le cytoplasme en rose.

On peut rajouter le safran qui se fixe au collagène (H.E.S)
La coupe colorée est protégée par une lamelle de verre collée.
La lame est alors prête à être analysée au microscope.

d) L'examen extemporané Il s'agit d'une urgence en anatomie pathologie. C'est un examen anatomopathologique pratiqué au cours d'une intervention chirurgicale sur un prélèvement frais, non fixé prélevé d'un patient endormi, afin de fournir rapidement au chirurgien un diagnostic susceptible de modifier le déroulement de l'acte chirurgical.

Les motifs les plus fréquents de demandes d'examen extemporané sont :

- Déterminer la nature inflammatoire, bénigne ou maligne d'une lésion (en cas de tumeur bénigne ou cancéreuse, elle détermine le geste chirurgical)
- S'assurer que les limites de résection sont saines.

On y effectue un examen macroscopique, suivi de coupes par le cryostat (microtome à congélation) où le prélèvement est refroidi et une coloration rapide (Bleu de toluidine, Hématéine Eosine...autres), ce qui permet un résultat en moins de 30 minutes.

Cependant au cours d'un examen extemporané, la morphologie tissulaire n'est pas de bonne qualité → Donc le diagnostic fourni par un examen extemporané n'est pas aussi fiable qu'un diagnostic histologique conventionnel : il ne doit être considéré que comme un diagnostic de présomption.

e) Colorations histochimiques spéciales :

Des colorations spéciales ont pour but de mettre en évidence des constituants particuliers des cellules (glycogène, mucus, pigments,...etc), ou de la matrice extracellulaire (collagène, fibres élastiques, amylose,... etc), ainsi que des agents infectieux. Elles sont très variées.

P.A.S (Periodic Acid Schiff) → Glycogène, mucines neutres, lipopigments, champignons.

Bleu Alcian → Mucines acides.

Rouge Congo → Dépôts amyloïdes.

Perls → Hémosidérine (Fer)

Fontana → Mélanine

Trichrome de Masson → Fibres collagène

Les sels d'argent → les fibres réticuliniques.

Orcéine → les fibres élastiques.

f) Histoenzymologie

Certains enzymes peuvent être mis en évidence sur des coupes congelées ou parfois après inclusion en paraffine. La coupe est incubée dans un substrat spécifique de l'activité enzymatique recherchée. La réaction libère un produit coloré, ou colorable qui peut être visualisé au microscope optique. L'application la plus courante est l'étude des biopsies musculaires.

g) Immunohistochimie

L'immunohistochimie consiste à mettre en évidence divers antigènes (Ag) cellulaires, ou extra-cellulaires à des anticorps (Ac) spécifiquement dirigés contre eux, sur des préparations cytologiques (immunocytochimie), ou sur des coupes de tissus congelés, ou fixés et inclus en paraffine.

Les Ag recherchés peuvent être membranaire, cytoplasmique, nucléaires ou des protéines de la matrice extra-cellulaire.

L'immunofluorescence directe : c'est le même principe que l'immunohistochimie, l'anticorps utilisé est couplé à un fluorochrome → l'interprétation se fait sur un microscope à fluorescence (l'immunohistochimie : microscope optique)

h) Le compte rendu anatomopathologique

Les résultats de l'analyse anatomopathologique sont donnés sous la forme d'un compte-rendu écrit, dans lequel les lésions sont décrites, puis interprétées, avec le cas échéant une description des méthodes complémentaires utilisées, pour aboutir à une conclusion synthétique : diagnostic lésionnel, ou hypothèse de diagnostic en fonction des renseignements fournis et des lésions observées. Chaque fois que cela est nécessaire (en particulier pour les tumeurs) des éléments de pronostic doivent être fournis.

IV- PLACE DE L'ANATOMOCYTOPATHOLOGIE DANS LA RECHERCHE

Le pathologiste doit continuer d'évoluer, comme il l'a toujours fait, en enrichissant la médecine de nouvelles méthodes diagnostiques, fondés sur la morphologie, plus précises et plus fiables et apportant de nouvelles données.

Microscopie électronique

Cette technique, par l'utilisation de coupes tissulaires très fines (moins de 100nm) et de grandissement très important, permet une étude à l'échelon cellulaire (analyse des constituants d'une cellule, des jonctions intercellulaires,...). Les prélèvements doivent être de petite taille (2 à 3nm), des fixateurs spéciaux doivent être utilisés (Glutaraldéhyde) et l'inclusion se fait dans de la résine.

L'utilisation du microscope électronique à visée diagnostic est actuellement très réduite (ex : pathologie rares neuromusculaires, rénales ou de surcharge).

Hybridation in situ fluorescente : FISH

Elle peut se faire sur des suspensions cellulaires, des empreintes, ou des coupes congelées ou déparaffinées, et permet d'identifier dans chaque cellule la présence et le nombre de copies d'un segment chromosomique donné.

Elle est de plus en plus utilisée pour rechercher des anomalies chromosomiques variées, ou géniques. Ces anomalies peuvent être d'une valeur diagnostic ou pronostic dans certaines tumeurs.

PCR in situ

Elle combine, sur des coupes histologiques, une amplification de type PCR et une hybridation in situ. Cette technique, très sensible est d'un maniement difficile, qui empêche encore actuellement son utilisation en routine.

Cytométrie en flux

C'est l'étude de cellules en suspension entraînées dans un flux et interceptées par un faisceau lumineux émis par un laser. Le faisceau modifié est détecté, amplifié et converti en signaux électriques traités par un ordinateur → permet de déterminer des paramètres à valeur pronostique en cancérologie.