

UNIVERSITE MENTOURI DE CONSTANTINE  
FACULTE DES SCIENCES MEDICALES  
DEPARTEMENT DE MEDECINE  
ANNEE UNIVERSITAIRE 2020-2021

**PLACE DE L'ANATOMIE ET CYTOLOGIE  
PATHOLOGIQUES EN MÉDECINE**

DR F. BOULDJENIB

LABORATOIRE CENTRAL D'ANATOMIE ET  
DE CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES

CHU Ibn Badis Constantine

## **I. Introduction/ Définition :**

- L'anatomie pathologique remonte aux Perses. Avicenne (Ibn Sina) utilisa les cadavres des champs de bataille à des fins scientifiques. Depuis les années cinquantes, plusieurs avancées technologiques se sont ajoutées à la microscopie traditionnelle : microscopie électronique, histochimie, immunohistochimie et biologie moléculaire.

### **1) Définition :**

**C'est l'étude des lésions macroscopiques, histologiques, ultra structurales et biomoléculaires apportées par la maladie aux organes, aux tissus et aux cellules**

- Elle se subdivise en deux volets :
  - **Anatomie pathologique générale** : qui étudie les grands processus pathologiques qui affectent l'homme (inflammatoire, tumorale, dystrophique,...).
  - **Anatomie pathologique spéciale** : qui étudie les lésions touchant un viscère ou un tissu particulier. Exp : pathologie osseuse, cutanée, endocrinienne, bucco-dentaire...

### **2) Intérêt de l'anatomie pathologique :**

- Permet de donner le diagnostic des maladies
- Apprécie le pronostic des tumeurs : bénignité, malignité, grade de malignité...
- précise et suit les stades évolutifs de la maladie.
- Guide la décision thérapeutique : (chirurgie, chimiothérapie, radiothérapie...)

## **II) Types de prélèvements :**

Le prélèvement doit être accompagné par un **bon de demande** d'examen anatomo-pathologique contenant tous **les renseignements** nécessaires et permettant, non seulement, d'aider au diagnostic mais, également, de l'accélérer.

### **A) La cytopathologie :**

#### **1) Définition :**

- Elle permet l'étude des cellules en dehors de leur contexte tissulaire
- Deux indications :
  - Diagnostic
  - Dépistage
- L'étude cytologique peut intéresser :
  - Les muqueuses et les organes creux en contact avec l'extérieur (col utérin, muqueuse ORL, arbre bronchique...)
  - Les organes solides (sein, thyroïde...), ou de siège profond (ganglions rétropéritonéaux, foie...)
  - Les épanchements liquidiens : physiologiques ou pathologiques

#### **2) Techniques de prélèvement en cytologie :**

- Cytoponction à l'aiguille ; peut être radioguidée

- Prélèvement au porte coton (un abaisse langue, une spatule, une brosse ou un écouvillon) : pour des lésions cutanées ou des muqueuses (buccales ou vaginales).
- Apposition (pièce opératoire fraîche ou ganglion)
- Le matériel arrive au laboratoire sous forme d'**étalements** sur lames ou de **liquide**

### 3) **Fixation et coloration :**

- La fixation est effectuée sur le frottis étalé sur lame.
- Les lames peuvent rester plusieurs jours sans que le frottis ne soit altéré.
- Les fixateurs :
  - Séchage à l'air libre
  - Mélange alcool-éther à parties égales
  - Atomiseurs de laque pour les cheveux (contient l'alcool et le glycol) donnent de bons résultats.
- Les colorations les plus utilisées sont :
  - Papanicolaou : une coloration universelle ; utilisée surtout pour les prélèvements gynécologiques.
  - Giemsa : utilisé pour les prélèvements thyroïdiens et des tissus hémato-lymphoïdes

### 4) **Apports et limites de la cytopathologie**

- La technique est simple et peu invasive
- le résultat peut être rendu, au besoin, quelques heures après l'arrivée du prélèvement.
- Indiquée dans le dépistage des lésions Précancéreuses
- Ses limites : peu fiables (doit être confirmée par un examen histologique)

## **B) Prélèvements tissulaires :**

Elle permet l'étude des tissus humains sur des prélèvements de :

- Biopsie et ponctions biopsies
- Pièces opératoires
- Autopsie

### 1) **Biopsies et ponction-biopsies :**

- Faite dans un but diagnostique et/ ou thérapeutique (biopsie exérèse)
- Deux techniques :

-Des biopsies à la pince, au bistouri ou à la sonde endoscopique (de la sphère ORL, bronchiques, du tube digestif...);

-Ponction – biopsies à l'aiguille ou un trocart (par exp. du sein, du foie, du rein, de la prostate...), souvent guidées par l'imagerie.

#### ➤ **Avantages :**

- En plus des données sur l'aspect des cellules tumorales, les biopsies ou ponction – biopsies renseignent sur l'architecture de la lésion.
- Il est de plus possible sur biopsie de fournir certains critères pronostiques (degré de différenciation, grade...).
- Des marquages histochimiques et immunohistochimiques peuvent également être réalisés à tout moment sur de nouvelles coupes à partir du bloc en paraffine

#### ➤ **Limites et risques :**

**Limites :** problème de représentativité du prélèvement :

- Prélèvement de petite taille
- Présence de nécrose

**Morbidités** : risques faibles

- Risque hémorragique (hématome local)
- Réaction inflammatoire
- Risque d'ensemencement du trajet biopsique par les cellules tumorales

**2) Les pièces opératoires :**

Il s'agit :

- de matériel de résection à la curette (curetage d'un kyste maxillaire)
  - de pièce d'exérèse segmentaire ou totale, d'une tumeur ou d'un organe.
- Chaque fois que possible, Ce matériel doit être envoyé frais (non fixé) au laboratoire.

**III) Etude macroscopique :**

- C'est l'examen à l'œil nu des pièces opératoires. Elle consiste à bien examiner la pièce, en apprécier les aspects morphologiques (forme, coloration, consistance, type et topographie des lésions, ...) et en faire un schéma.
- Les organes creux doivent être ouverts et les organes pleins doivent être découpés pour permettre au fixateur de bien pénétrer les tissus.

**IV) La fixation :**

- La fixation est un moyen technique : physique (une cryopréservation par exemple) ou, surtout chimique qui permet de garder les structures tissulaires à étudier dans un état aussi proche que possible de l'état vivant.
- Elle s'oppose à l'autolyse des constituants fondamentaux sous l'effet des enzymes cellulaires.
- Elle s'oppose aux distorsions et rétractions.
- Elle protège contre l'attaque bactérienne.
- Plusieurs fixateurs, Le formol est le plus utilisé pour ses qualités de bon fixateur et conservateur. C'est une solution tamponnée à 10 % à PH neutre
- La fixation doit être immédiate.
- La quantité du fixateur doit être suffisante, au moins 10 fois le volume de la pièce à fixer.
- La durée de la fixation varie en fonction de la taille du prélèvement (6 heures pour les petites biopsies et jusqu'à 72 heures pour les pièces opératoires).

**V) Etape de la confection des coupes :** consiste-en :

- Déshydratation
- Désalcoolisation
- Inclusion en paraffine : Il s'agit de faire pénétrer à l'échelle cellulaire une substance homogène et solidifiable appelée paraffine.

Il s'agit, également, de confectionner des blocs de paraffine, dans lesquels sont inclus les prélèvements à étudier, à l'aide de moules.

- Coupe des blocs au microtome 3 à 4 microns d'épaisseur
- Coloration: La coloration standard de routine universellement adoptée en anatomie pathologie est l'**Hémalum-Eosine (HE)** qui associe un colorant nucléaire en bleu violet foncé (**hemalum**) et un colorant cytoplasmique éosinophile rose (**éosine**).

- Les colorations histologiques sont très nombreuses et variées mais se résument schématiquement en trois types de coloration :
- **Les colorations topographiques** : Ce sont des colorations standards associant à la fois : une coloration nucléaire et une coloration cytoplasmique dite de fond.
- **Les colorations histochimiques** : Elles visent à mettre en évidence dans le tissu examiné : glycogène, mucus, graisse, pigments ferriques, mélaniques...
- **Les colorations structurales** : Elles mettent en évidence les composants intimes de certaines structures tissulaires : fibres élastiques, fibres réticulaires.
  - **Le montage** : Le montage consiste à protéger le prélèvement étalé sur la lame en collant une lamelle à l'aide d'une résine. Le prélèvement est, ainsi, protégé contre les traumatismes et le dessèchement.
  - Etape de la lecture

#### VI) **Examen extemporané** :

- C'est un examen anatomo-pathologique rapide pratiquée pendant une intervention et dont les résultats immédiats(en moins de 30 minutes) permettent d'orienter les suites de cette intervention
- Se fait à l'aide d'un appareil à congélation (- 30°), type "cryostat" ou "cryocut" (utilisés surtout en milieu hospitalier).
- Le prélèvement doit être adressé immédiatement, à l'état frais, sans fixateur ni sérum physiologique.
- **La coloration** : la plus rapide est le **Bleu de Toluidine suivie par une coloration rapide** avec de l' Hématéine-Eosine en un second temps.
- L'avis extemporané ne représente pas une réponse définitive. L'examen histologique après inclusion en paraffine fait partie intégrante de l'acte.

#### VII) **Histomorphométrie** :

- Un examen effectué surtout pour les spécimens osseux non décalcifiés ; il fournit des informations qualitative et quantitative sur la structure osseuse et le remodelage osseux
- Un test indiqué pour le diagnostic de certaines maladies métaboliques osseuses ainsi que pour le suivi de la réponse aux différents traitements
- Pratiqué au niveau de la crête iliaque antérieure après avoir administré des tétracyclines 3 semaines avant le geste
- Le prélèvement est fixé au formol ou éthanol 70% et enrobé ensuite dans une résine de plastique
- La coupe est faite à l'aide d'un microtome robotisé
- Analyse par un microscope optique, polarisé ou à fluorescence muni d'une caméra et ordinateur (superficie, épaisseur, et le périmètre du tissu, organites intra-cellulaires)

#### VIII) **L'immunohistochimie** :

- Une technique capable de détecter une substance ou un constituant (un antigène) par mise en évidence indirecte d'un anticorps spécifique dirigé contre cette structure ou cette substance (mise en évidence des cytokératines dans les tissus épithéliaux, de la desmine dans les tissus musculaires, de la protéine gliofibrillaire acide dans les astrocytes...).
- Permet d'établir le phénotypage des tumeurs.
- Les marquages immunohistochimiques sont réalisés le plus souvent sur coupes en paraffine, en complément de l'examen histologique standard.

- Antigène : Les antigènes sont plus souvent des molécules protéiques. Il peut s'agir soit :
  - 1-de molécules normalement présentes,
  - 2-de molécules qui s'y déposent à la suite d'un processus pathologique
  - 3-de molécules exogènes comme les Ag. viraux, microbiens ou autres
- Anticorps :
- Ce sont des glycoprotéines reconnaissant de façon spécifique et avec une affinité élevée les antigènes contre lesquels ils ont été produits. Ces anticorps peuvent être soit : polyclonaux ou monoclonaux

### **IX) L'immunofluorescence directe :**

- Une technique d'immunomarquage, qui utilise des anticorps ainsi que des fluorochromes
- Permet de révéler la présence, l'absence ou la localisation d'une protéine spécifique par émission de fluorescence.
- Utilisation d'un anticorps dirigé contre la molécule recherchée (antigène). Cet anticorps est couplé à un fluorochrome
- Microscope à épifluorescence ou un microscope confocal
- Indications :
  - Détection de dépôts d'immunoglobulines ou de protéine de compléments
  - Quantifier l'expression d'oncogènes
  - Déterminer la qualité du sperme

### **X) Examen en lumière polarisée :**

- Microscope optique qui utilise un faisceau de lumière polarisée
- Utilise un polarisateur localisé avant l'échantillon et un analyseur (perpendiculaire au premier) après pour empêcher la lumière premièrement polarisée de passer
- Certaines substances placée entre les deux polarisateurs perturbe le faisceau lumineux qui va adopter de nouvelles vibrations dont certaines vont pouvoir passer traverser l'analyseur (composition chimique particulière) Exp: substance amyloïde

### **XI) Examen en microscopie électronique :**

- Utilise un faisceau d'électrons pour illuminer prélèvement
- Très haute résolution (jusqu'à 5 millions de fois)
- Fixation par des aldéhydes (protéines) ou le tétr oxyde d'osmium (lipides) ou une cryofixation
- Prélèvement enrobé dans la résine acrylique puis coupé par un ultramicrotome (60-90nm)
- Technique couteuse
- Intérêt pour une étude ultrastructurale des tissus (biopsie musculaire +++)

### **XII) L'hybridation in situ (HIS) :**

- Une technique de laboratoire pour localiser une séquence de nucléotides connue monobrin (ARN ou ADN) sur une coupe histologique de tissu.
- Cette technique repose sur la complémentarité des bases nucléiques entre elles (en effet, si l'on place dans un même milieu deux monobrin inverses complémentaires, ils vont naturellement se rapprocher pour former une hélice
- Applications :
  - Recherche de remaniements du génome
  - Localisation d'un gène
  - Analyse de l'expression d'un gène
  - Recherche d'altérations sur un gène

- Etablir l’empreinte génétique

## **XII) L'amplification en chaîne par polymérase :**

- La PCR est une technologie qui a bouleversé la biologie moléculaire et s'est implantée très rapidement dans les laboratoires L'**amplification en chaîne par polymérase** ou **réaction en chaîne par polymérase (PCR)** est l'abréviation anglaise de *polymerase chain reaction*, l'acronyme français ACP pour amplification en chaîne par polymérase est très rarement employé), est une méthode de biologie moléculaire d'amplification génique *in vitro*, qui permet de copier en grand nombre (avec un facteur de multiplication de l'ordre du milliard), une séquence d'ADN ou d'ARN connue, à partir d'une faible quantité (de l'ordre de quelques picogrammes) d'acide nucléique (séquence *spécifique* d'ADN (l'Amplicon))
- Pour avoir répllication d'un ADN double brin, il faut agir en trois étapes :
  - Il faut dénaturer l'ADN pour obtenir des matrices simple brin
  - Borner et amorcer la répllication de la séquence à amplifier à l'aide d'oligonucléotides amorces spécifiques ;
  - Réaliser la réaction de polymérisation du brin complémentaire. A la fin de chaque cycle, les produits sont sous forme d'ADN double brin.