

UE2 cours 1 : Anatomie et cytologie pathologique : Buts, techniques, résultats

I/. Anatomie-pathologie

1) Définition et intérêt diagnostic

Anatomie pathologique générale = étude des grands processus pathologiques à échelon cellulaire et tissulaire.

Anatomie pathologique spéciale = étude des lésions dans un tissu/viscère particulier.

C'est une **discipline médicale** : le clinicien observe son patient, fait des prélèvements (tissus, cellules) et les envoie à l'anatomo-pathologiste qui interprète les prélèvements à partir des renseignements cliniques et de l'histoire du patient. Il donne une réponse de diagnostic, pronostic et traitement.

2) Etude des lésions (lésion=altération morpho d'un élément vivant)

L'anatomie-pathologie est l'étude des lésions prélevées, et examinées soit à l'œil nu (macroscopie) soit au microscope.

Etude microscopique de cellules isolées = **cytologie/cytopathologie**

ou d'un tissu (ensemble des cellules et substances intercellulaires) = **histologie** (sur biopsie, pièce opératoire complète ou autopsie).

3) Conditions préliminaires à l'examen anatomo-pathologique

C'est un **diagnostic reposant sur une interprétation**, et non une mesure exacte. Les renseignements sur le patient obtenus par le clinicien sont indispensables (état civil, antécédents, traitements, symptômes, données cliniques, biologiques, imagerie...).

II/. Cytologie (= étude de cellules isolées dans un contexte tissulaire, sur lame de verre)

1) Catégories de prélèvements

Liquides :

- physiologiques (LCR : normalement ne contient pas de cellules)
- qui ne devraient pas être présents/pathologiques (épanchement des séreuses : ascite ou pleurésie par ex)
- lavage (broncho-alvéolaire)
- autres... (épanchement articulaire)

Grattage/Brossage :

- frottis cervical (col utérin)
- frottis d'une lésion (buccale, génitale...)
- brossage bronchique ou œsophagien

Apposition de pièce opératoire (ex : ganglion lymphatique découpé et posé sur une lame).

Cytoponction à l'aiguille fine (+/- sous contrôle écho ou scanner) d'une masse, d'un organe plein ou d'un kyste = aspiration sans biopsie, sous anesthésie locale.

2) Techniques

Cytologie en milieu liquide (technique de référence):

Immersion des cellules dans un liquide de conservation, elles sont en suspension (=dispersion). Les cellules sont concentrées par centrifugation et filtration, puis déposées en couche très mince sur lame.

Intérêt de cette technique : stock de cellules pour un prélèvement donné, c'est une « réserve ».
Il existe des techniques supplémentaires (immunocytochimie, biologie moléculaire, hybridation in situ) pouvant être pratiquées en cas d'indication.

Frottis traditionnel (ancien):

Étalement d'emblée ou à partir d'un culot de centrifugation d'un liquide ou de la brosse sur une lame.
Fixation des cellules par dessiccation, séchage à l'air ou laque. Puis coloration des cellules par techniques de cytologie : Papanicolaou (pathologie tumorale), MGG (hémato).

Apposition ou empreinte

Ne permet pas de réserve du matériel.

3) Indications et limites

La cytologie permet : des dépistages (frottis cervical), des diagnostics avec des aiguilles très fines dans des lésions profondes, de compléter les examens histologiques (notamment en hématologie, car la morpho cellulaire est de meilleure qualité en cytologie).

Limites : il faut que la technique soit bonne, frottis pas trop épais, prélèvements directement envoyés au labo, fixation immédiate, ne pas sur-interpréter les prélèvements (diagnostic d'orientation, et non définitif, complété par une étude histologique de « contrôle » si suspicion de malignité).

III/. Etude macroscopique = Examen à l'œil nu (échelle tissulaire) qui permet l'orientation anatomique et lésionnelle, les mesures et prélèvements usuels.

1) Pièces opératoires

Elles arrivent « **fraîches** » au laboratoire : on regarde les lésions (localisation, taille), photo, pesée... Puis fixations diverses.

Techniques particulières : apposition pour la cytologie, congélation à -80°C (tissuthèque, tumorothèque) pour des études ultérieures

2) Exemples

Arrivée d'un segment de colon : ouverture pour observer la lésion, prélèvement puis congélation (pour des techniques ultérieures).

Fixation (24-48h) de la pièce avec du formol (fixateur de référence).

Prélèvements : lésion, limites de l'exérèse (vérifications)... Permet de savoir s'il existe une pathologie sous-jacente sans lésions macroscopiques.

Arrivée d'une tumeur de fémur : on la coupe, on voit un peu d'os persistant, on fait des prélèvements et on étudie les limites, les extensions, puis on classe la tumeur en cherchant des éléments de pronostic, et on cherche quel serait le traitement adapté.

IV/. Histologie

1) **Biopsie** (prélèvement d'un fragment de tissu sur un être vivant par différentes techniques)

- Biopsie « simple » avec une partie de la lésion
- Ponction biopsie : trocart (BOM), aiguille (organe plein)
- Biopsie exérèse (retirer entièrement la lésion)

On peut aussi utiliser : scalpel, pince (endoscopie, bronchoscopie, cystoscopie), bistouri (peau, muqueuses), acte chirurgical, stéréotaxie (technique neurochir permettant d'atteindre précisément les zones du cerveau).

Les biopsies doivent être d'une taille suffisamment grande, en nombre suffisant (hétérogénéité des lésions), il faut bien choisir la zone biopsiée (ne pas biopsier uniquement la nécrose, mais aussi à proximité). Il faut préserver les tissus, mais aussi bien orienter et étiqueter les prélèvements.

2) Techniques standard

Fixation :

Première étape, elle consiste à **immobiliser et conserver les cellules et l'architecture tissulaire de façon aussi proche que possible de leur aspect à l'état vivant.** (+++)

Mise en place rapide (sinon autolyse du tissu), doit être suffisamment longue et avec un volume de fixateur adéquat. Choix du fixateur selon les techniques complémentaires éventuelles ou la taille du prélèvement. Le principal est le formol neutre, tamponné, 10%, transparent (il y a aussi l'AFA transparent et le liquide de Bouin). Il ne modifie pas trop les couleurs, mais il est très toxique.

Inclusion :

Prélèvement d'une pièce opératoire, fixée, déposée dans une cassette (fractionnement si besoin). La cassette est placée dans un automate à inclusion : déshydratation du prélèvement, il est plongé dans des bains de toluène, puis imbibé dans de la paraffine liquide chaude (prend la place de l'eau et des graisses).

On met le bloc de paraffine sur une plaque froide pour le solidifier, coupes au microtome : qu'on étale sur lame, qu'on colore et qu'on examine.

Coloration :

Elimination de la paraffine, réhydratation par des bains décroissants d'alcool, coloration (pas les graisses).

Coloration standard = HES (trichromique : hématoxyline, éosine, safran).

Possibles colorations complémentaires/spéciales pour mettre en évidence des constituants particuliers.

3) Techniques particulières

Examen extemporané :

Technique d'analyse histologique rapide réalisée en cours d'intervention chirurgicale : de la réponse de l'examen anatomo-pathologique (donnée en 20min) découle le geste chirurgical.

Congélation au cryostat (-30°C) en qq min, découpage au microtome, puis coloration (HES).

But : déterminer la lésion, savoir si elle est liée à une pathologie antérieure, identifier le prélèvement, étudier les limites d'exérèse d'une tumeur.

Limite principale : **le temps** (20min + qualité moins bonne qu'en technique standard).

Congélation :

Egalement possible avec de **l'azote liquide** pour la conservation au congélateur à -80°C (dans le cas où des examens complémentaires sont nécessaires).

Utile pour la biologie moléculaire (étude ADN et ARN par PCR), éventuellement l'immunohistochimie.

Elle doit être rapide et réalisée dans de bonnes conditions (sinon dégradation ADN/ARN par enzymes).

Immunohistochimie/Immunocytochimie :

Complètent les colorations spéciale et standard. **Mise en évidence spécifique de structures antigéniques dans les tissus en appliquant un anticorps spécifique sur une coupe.**

Permet : de diagnostiquer et classer une tumeur, de mettre en évidence un agent infectieux, d'établir un pronostic, de savoir quel est le traitement à utiliser.

La méthode immunoenzymatique indirecte se fait sur coupe en paraffine, coupe congelée, ou sur des cellules isolées en cytologie. Application d'un Ac primaire spécifique, puis d'un Ac secondaire couplé à une enzyme à laquelle on fournit le substrat. Le produit coloré (issu de la réaction enzymatique) apparaît au niveau des complexes Ag-Ac formés.

Techniques de biologie moléculaire :

Mise en évidence de séquences d'ADN ou ARN par des sondes d'acides nucléiques complémentaires, révélées par enzyme, fluorochrome (FISH), ou traceur radioactif.

On peut faire une hybridation in situ classique pour détecter acides nucléiques de virus ou ARN immunoglobulinique. Possibles hybridations plus sophistiquées avec un chromogène (CISH) ou un marqueur fluorescent (FISH) pour déterminer le nombre de copies d'un segment chromosomique.

Avec les techniques de biologie moléculaire non morpho, on recherche la clonalité, perte d'hétérozygotie, les mutations... (après une sélection des lésions par microdissection)

Microscope électronique :

Etude de l'ultrastructure des tissus et d'agents pathogènes. Technique longue et couteuse (fixation au glutaraldéhyde, inclusion en résine, coupe avec couteaux en diamants : ultramicrotome).

Indications très limitées : maladies de surcharge, pathologie neuromusculaire ou rénale, recherche.

V/. Risques en anatomo-pathologie et en autopsie

1) Risques infectieux

Inhérents à la manipulation de prélèvements frais ou liquide.

Risque de contamination par : un virus (hépatite B, C, VIH), une bactérie (tuberculose), des ATNC

Nécessitent des précautions à l'examen et au prélèvement.

2) Risques toxiques

Les produits utilisés sont toxiques. Les conditions de manipulation sont précises et surveillées.

Risques personnels (fixateur, réactifs, solvant) et environnementaux (déchets).

3) Autopsie/Nécropsie (examen macroscopique et histologique)

Pour des raisons de coût les autopsies à visée scientifique ne sont quasiment plus réalisées (elles permettaient de vérifier un diagnostic, d'apprécier l'extension d'une maladie, de juger des effets d'un traitement, d'établir les causes de la mort, elles étaient source de données épidémiologiques).

Cet examen diffère de **l'autopsie médico-légale** faite par le médecin légiste (aucune opposition possible, considéré comme un « don du corps à la science »).