

LES PREPARATIONS TISSULAIRES

INTRODUCTION

Qu'est-ce que l'histologie ?

Étymologiquement, ce mot issu du grec signifie « sciences des tissus » :

- histos pour tissu
- logos pour science

L'histologie est l'étude des tissus, c'est à dire de :

- leur structure
- leur composition
- leur fonctionnement
- leur renouvellement
- les échanges cellulaires en son sein

Les tissus sont constitués de cellules et de leur matrice extra-cellulaire (MEC).

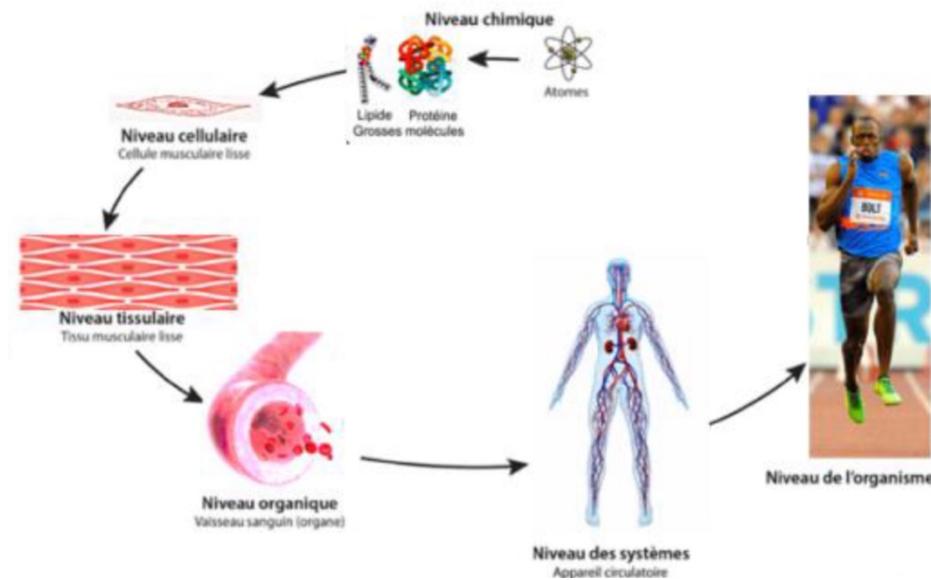
(++) Les tissus représentent le premier niveau d'organisation supra-cellulaire.

I. NIVEAUX D'ORGANISATION STRUCTURALE

Il existe plusieurs niveaux d'organisation structurale dans le corps humain.

On retrouve :

- ATOME (s'assemblant pour former des molécules)
- ORGANITE
- CELLULE : l'unité de base du monde du vivant (uni/pluri-cellulaire)
- TISSU : le premier niveau d'organisation supracellulaire, exclusivement constitué de cellules et de MEC
- ORGANE : l'assemblage de plusieurs tissus différents
- SYSTEME ET APPAREIL : l'assemblage de plusieurs organes contribuant ensemble à la formation d'une fonction



II. METHODES CLASSIQUES DE PREPARATION HISTOLOGIQUE

Problème : Ce que l'on souhaite observer en histologie **n'est pas visible à l'œil nu**. C'est pourquoi on va traiter les échantillons de tissus avec plusieurs agents physiques et chimiques afin de pouvoir les interpréter notamment grâce à de microscopes.

La préparation de nos échantillons va donc suivre **5 étapes successives** dans un ordre bien précis (+++) :

- 1) FIXATION
- 2) INCLUSION
- 3) COUPE
- 4) COLORATION
- 5) MONTAGE

Le but est de préserver **l'intégrité du tissu** et ses **caractéristiques morphologiques**. Mais ces étapes vont tuer la cellule → On ne peut pas faire une étude dynamique, on obtient une photo **figée** à l'instant T.

Après le traitement on peut observer nos échantillons à l'aide d'un microscope. Il doit avoir une bonne résolution spatiale (capacité de distinguer 2 points très proches sans perturbation) et peu de perturbations (liées aux agents de fixations, colorations, etc..)

Le microscope doit être sensible et l'image contrastée.

PREPARER UNE LAME HISTOLOGIQUE (pour de la microscopie optique, MO)

0) PRELEVEMENT : L'échantillon de tissu peut provenir d'une partie spécifique d'un organe (biopsie), d'un organe entier (pièce opératoire) ou même sur un cadavre (autopsie).

On observe ensuite l'échantillon frais et **non fixés** (=n'ayant subi aucun traitement) à **l'oeil nu = macroscopiquement**. On définit ainsi le poids, la taille, la consistance, la couleur... L'échantillon est placé dans une cassette d'inclusion pour la suite de la manipulation.

1) FIXATION : Cette étape permet de conserver l'échantillon au plus proche du vivant ; immobilisation des constituants cellulaires, prévention de l'autolyse cellulaire et de la putréfaction bactérienne post-mortem. La fixation est aussi bien utilisée pour la microscopie optique qu'électronique, mais les moyens de fixations sont différents. La durée de fixation comme le volume de fixateur dépendra du volume de l'échantillon. L'agent fixateur ici pour la MO est le **FORMOL** ou bien le **PARAFORMALDEHYDE**.

2) INCLUSION EN PARAFFINE : Le but est ici de donner à l'échantillon une consistance afin de réaliser des coupes suffisamment fines pour laisser passer la lumière du microscope et donc bien visualiser le tissu, d'où l'inclusion en paraffine.

°On **déshydrate** l'échantillon en remplaçant l'eau par la paraffine.

Cependant ces derniers ne sont pas miscibles ; la paraffine étant **hydrophobe**.

On procède donc en étapes (automatisées) en remplaçant :

- L'eau par de l'alcool
- L'alcool par un **solvant organique** miscible avec la paraffine (Toluène), le prélèvement devient transparent (=clarification)
- Le Toluène par la paraffine

°L'échantillon placé sur sa cassette d'inclusion est enrobé de paraffine.

°L'ensemble se refroidit, se solidifie, c'est la **rigidification**.

3) COUPE : La réalisation de coupe de 2 à 5microns se fait grâce à un **microtome** (ou par un cryostat si le prélèvement a été congelé). Les coupes sont posées sur des lames de verre, puis dépliées et séchées. On obtient alors des **lames blanches (=non colorées)**

4) COLORATIONS : Les coupes sont **déparaffinées, réhydratées, puis colorées** afin d'augmenter les contrastes et de différencier les tissus et leurs composants.

5) MONTAGE : Il faut **protéger** l'échantillon par l'apposition d'une résine et d'une **lamelle de verre « couvre objet »** ou par un **film plastique**. Cela permet de **conserver** la lame et de l'observer au microscope **sans risque d'abimer le tissu**

Un colorant est une **solution aqueuse** composé d'un groupement **chromophore** (qui apporte la couleur), et d'un groupement **auxochrome** qui est ionisé et va se fixer de façon **permanente** sur les groupement acide ou basique des constituants cellulaires.

Ainsi les colorants basiques colorent les composants acides et vice versa. Les colorants ne sont donc pas spécifiques d'un type de molécule mais d'un type de **charge électrique**.

LES COLORATIONS CLASSIQUES (++)

HE —> la plus courante, **hématoxyline-éosine**.

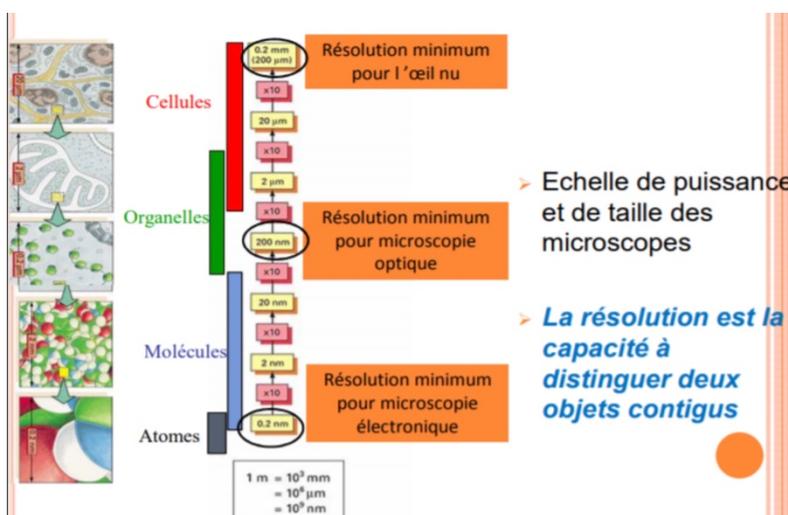
Technique de coloration standard.

HES —> **hématoxyline-éosine-safran**

Trichrome De Masson —> **pathologie cardiaque, hépatique et rénale**.

COLORANT	ACIDE / BASIQUE	FIXE QUOI ?	COLORE QUI ?	COULEUR
HEMATOXYLINE	BASIQUE	ACIDE NUCLEIQUE	NOYAU, REG	VIOLET
EOSINE	ACIDE	PROTEINES	CYTOPLASME, FIBRE	ROSE
SAFRAN	/	COLLAGENE	MEC	ORANGER
TRICHROME DE MASSON	/	/	MUSCLE COLLAGENE NOYAU	ROUGE VERT NOIR

III. ECHELLE ET UNITES DE LONGUEUR DU VIVANT



Résolution à savoir :
(++)

Oeil nu : 0,2mm
Microscope optique :
0,2μm (=200nm)
Microscope électronique
: 0,2nm

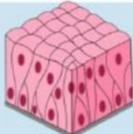
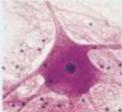
Le ME a un meilleur pouvoir séparateur que le MO.

Mémo :

MO utilise des
photons
ME utilise des
Electrons

IV. CLASSIFICATION DES TISSUS

Il existe **4 groupes fondamentaux de tissus** chez les vertébrés, organisés selon leur structure : tissu épithélial, tissu conjonctif, tissu musculaire et tissu nerveux.

Les tissus fondamentaux	Fonction	Exemple dans l'organisme
Tissu épithélial 	Protège la surface de l'organisme Tapisse les cavités corporelles Transport, reabsorption, secretion, excretion de substances	Epiderme Muqueuses Glandes
Tissu conjonctif et de soutien 	Mise en contact des structures de l'organisme, statique de l'organisme, stockage de substances, processus de transport	Cartilages, os, ligaments, tendons, tissu adipeux, sang
Tissu musculaire 	Mouvement du corps et des organes	Muscles squelettiques, coeur, parois, vasculaires, organes creux
Tissu nerveux 	Recueil, traitement, stockage et envoi des informations Commandes des fonctions de l'organisme	Cerveau, moelle spinale, nerfs périphériques, organes des sens