



OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible

This is an author's version published in: <http://oatao.univ-toulouse.fr/24276>

To cite this version:

Fabiau, Justine . *Analyse histologique et cytologique de prélèvement cérébraux échoguidés : étude préliminaire chez le chien sain*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse – ENVT, 2018, 93 p.

Any correspondence concerning this service should be sent to the repository administrator: tech-oatao@listes-diff.inp-toulouse.fr

ANALYSE HISTOLOGIQUE ET CYTOLOGIQUE DE PRELEVEMENTS CEREBRAUX ECHOGUIDES : ETUDE PRELIMINAIRE CHEZ LE CHIEN SAIN

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

FABIAU Justine

Née, le 31 juillet 1992 à VILLENEUVE-SUR-LOT (47)

Directeur de thèse : Mme Alexandra DEVIERS

JURY

PRESIDENT :

Mme Isabelle BERRY

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :

Mme Alexandra DEVIERS
M. Giovanni MOGICATO

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MEMBRE INVITE :

Mme Catherine LAYSSOL-LAMOUR

Docteur Vétérinaire à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

REPARTITION DES ENSEIGNANTS PAR GRADE

(Mise à jour : 07/09/2018)

DIRECTRICE : ISABELLE CHMITELIN

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE (6)

Mme	CLAUW Martine	SECTION C.N.E.C.A. N° 8	
M.	CONCORDET Didier		3
M.	DELVERDIER Maxence		7
M.	ENJALBERT Francis		6
M.	PETIT Claude		1
M.	SHELCHER François		8

PROFESSEURS 1° CLASSE (17)

M	BAILLY Jean-Denis		4
M.	BERTAGNOLI Stéphane		1
M.	BERTHELOT Xavier		6
M.	BOUSQUET-MELOU Alain		7
M.	BRUGERE Hubert		10
Mme	CADIERGUES Marie-Christine		8
Mme	CHASTANT-MAILLARD Sylvie		6
M.	DUCOS Alain		6
M.	FOUCRAS Gilles		8
Mme	GAYRARD-TROY Véronique		7
M	GUERIN Jean-Luc		6
Mme	HAGEN-PICARD Nicole		6
M.	JACQUIET Philippe		8
M.	LEFEBVRE Hervé		7
M.	MEYER Gilles		8
M.	SANS Pierre		6
Mme	TRUMEL Catherine		7

PROFESSEURS 2° CLASSE (7)

Mme	BOULLIER Séverine		1
Mme	BOURGES-ABELLA Nathalie		7
M.	GUERRE Philippe		7
Mme	LACROUX Caroline		7
M.	MAILLARD Renaud		8
M	MOGICATO Giovanni		7
Mme	LETRON-RAYMOND Isabelle		7

PROFESSEUR CERTIFIÉ(P.C.E.A.)

Mme	MICHAUD Françoise, Professeur d'Anglais
M.	SEVERAC Benoît, Professeur d'Anglais

MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE (11)

M.	BERGONIER Dominique		6
Mme	DIQUELOU Armelle		8
M.	JAEG Jean-Philippe		7
M.	JOUGLAR Jean-Yves		8
M.	LYAZRHI Faouzi		3
M.	MATHON Didier		8
Mme	MEYNADIER Annabelle		6
Mme	PRIYMENKO Nathalie		6
M.	RABOISSON Didier		6
M	VERWAERDE Patrick		8
M.	VOLMER Romain		1

MAITRES DE CONFERENCES classe normale (24)

M.	ASIMUS Erik		8
Mme	BENNIS-BRET Lydie		7
Mme	BIBBAL Delphine		4
Mme	BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle		1
Mme	BOUHSIRA Emilie		8
M	CONCHOU Fabrice		8
M	CORBIERE Fabien		8
M.	CUEVAS RAMOS Gabriel		8
Mme	DANIELS Hélène		1
Mme	DAVID Laure		4
Mlle	DEVIERS Alexandra		7
M.	DOUET Jean-Yves		8
Mme	FERRAN Aude		7
Mme	LALLEMAND Elodie		8
Mme	LAVOUE Rachel		8
M.	LE LOC'H Guillaume		8
M	LIENARD Emmanuel		8
Mme	MILA Hanna		6
Mme	MEYNAUD-COLLARD Patricia		8
M.	NOUVEL Laurent		6
Mme	PALIERNE Sophie		8
Mme	PAUL Mathilde		6
M.	VERGNE Timothée		7
Mme	WASET-SZKUTA Agnès		6

A.E.R.C. (6)

Mme	BLONDEL Margaux		8
M.	CARTIAUX Benjamin		7
M.	COMBARROS-GARCIA Daniel		8
Mme	COSTES Laura		4
M.	GAIDE Nicolas		7
M.	JOUSSERAND Nicolas		8

MAITRES DE CONFERENCES CONTRACTUEL (2)

Mme	DORE-BORDE Laura		8
M.	LEYNAUD Vincent		8

REMERCIEMENTS

A Madame le Professeur Isabelle BERRY

Professeur des Universités
Université Paul Sabatier de Toulouse
Praticien Hospitalier
Biophysique, Imagerie médicale

Qui me fait l'honneur d'accepter la présidence du jury de thèse.
Hommages respectueux.

A Madame le Docteur Alexandra DEVIERS

Maitre de conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Anatomie et Imagerie médicale

Pour le temps consacré à la correction du manuscrit.
Pour les précieux conseils.
Sincères remerciements.

A Monsieur le Professeur Giovanni MOGICATO

Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Anatomie et Imagerie médicale

Pour avoir accepté de prendre part à ce jury de thèse.
Sincères remerciements.

A Madame le Docteur Catherine LAYSSOL

Docteur Vétérinaire à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Praticien hospitalier
Imagerie Médicale, Sciences cliniques

Pour m'avoir permis de prendre part à ce projet.
Pour m'avoir guidée dans la réalisation de cette thèse.
Sincères remerciements.

TABLE DES MATIERES

LISTE DES FIGURES.....	8
LISTE DES TABLEAUX	9
LISTE DES ABREVIATIONS	9
INTRODUCTION	10
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE.....	11
I. Anatomie, histologie et cytologie de l'encéphale du Chien	12
1. Développement du système nerveux central	12
1.1. Neurulation	12
1.2. Formation de l'encéphale	13
1.3. Evolution de l'épithélium du tube neural.....	14
2. Les cellules du système nerveux central.....	15
2.1. Neurones.....	15
2.2. Cellules gliales du système nerveux central.....	19
2.2.1. Astrocytes.....	20
2.2.2. Oligodendrocytes	21
2.2.3. Ependymocytes	23
2.2.4. Microgliocytes	24
3. Organisation tissulaire du système nerveux central.....	25
3.1. Substance grise.....	25
3.1.1. Composition et organisation cellulaire.....	25
3.1.2. Organisation corticale	25
3.1.3. Noyaux de substance grise	29
3.2. Substance blanche	29
3.3. Formation réticulaire	29
4. Organisation anatomo-fonctionnelle de l'encéphale et de ses enveloppes chez le Chien.....	30
4.1. L'encéphale	30
4.1.1. Le cerveau.....	30
4.1.2. Le tronc cérébral.....	34
4.1.3. Le cervelet	40
4.2. Les supports métaboliques et protecteurs	41
4.2.1. Le système ventriculaire.....	41
4.2.2. Les méninges	41
4.2.3. Les os du crâne	42
II. Examens histologiques et cytologiques cérébraux chez le Chien	44
1. Indications.....	44
2. Techniques chirurgicales d'abord	44
2.1. Craniotomie.....	44
2.2. Trépanation	45
2.2.1. Prélèvements échoguidés	45
2.2.2. Biopsie stéréotaxique	46

3.	Examen histologique.....	48
3.1.	Prélèvement et préparation.....	48
3.2.	Aspect histologique du tissu nerveux normal à l'hémalun-éosine.....	48
3.2.1.	Aspect histologique dans la substance grise	49
3.2.2.	Aspect histologique dans la substance blanche	52
3.3.	Autres colorations et techniques de préparation	53
3.4.	Aspect histologique des lésions élémentaires du tissu nerveux	55
3.4.1.	Lésions du neurone	55
3.4.2.	Réactions gliales	55
4.	Données actuelles en cytologie cérébrale	57
4.1.	Prélèvement et étalement	57
4.2.	Coloration.....	59
4.3.	Aspect cytologique du tissu nerveux normal	60
4.4.	Modifications pathologiques mises en évidence par cytologie	62
4.5.	Intérêts et limites de l'examen cytologique.....	62
5.	Aspect histologique et cytologique des gliomes diffus canins.....	63
5.1.	Définition et enjeux.....	63
5.2.	Caractéristiques histologiques des gliomes diffus canins	65
5.2.1.	Astrocytomes diffus et anaplasiques.....	65
5.2.2.	Oligodendrogliomes et oligodendrogliomes anaplasiques	65
5.2.3.	Glioblastomes.....	65
5.2.4.	Oligoastrocytomes et oligoastrocytomes anaplasiques.....	66
5.3.	Caractéristiques cytologiques des gliomes diffus canins	68
PARTIE EXPERIMENTALE.....		71
I.	Objectifs et contexte.....	72
II.	Matériel et méthodes	73
1.	Cadavres	73
2.	Prélèvements tissulaires	74
3.	Préparation des lames et interprétation	74
III.	Résultats	75
1.	Examen microscopique des biopsies	75
1.1.	Biopsies de cervelet.....	76
1.2.	Biopsies de substance blanche.....	77
1.3.	Biopsie de gyrus denté.....	80
1.4.	Biopsie de plexus choroïde.....	81
2.	Examen microscopique des cytoponctions.....	82
IV.	Discussion	85
CONCLUSION		87
BIBLIOGRAPHIE :.....		90

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Neurulation.....	12
Figure 2 : Développement des vésicules de l'encéphale.....	13
Figure 3 : Différentiation de l'épithélium neural.....	14
Figure 4 : Schémas de la structure (A) et de la polarité neuronale (B)	16
Figure 5 : Schéma des différents types de neurones	16
Figure 6 : Ultrastructure du neurone (A) et d'une synapse (B).....	17
Figure 7 : Zones neurogènes (schéma d'une coupe sagittale d'encéphale de rat).....	18
Figure 8 : Schéma des membranes gliales.....	21
Figure 9 : Les différents types d'oligodendrocytes	22
Figure 10 : Ultrastructure de la myéline.....	23
Figure 11 : Les différentes formes de microgliocytes	24
Figure 12 : Organisation schématique en six couches du néocortex.....	26
Figure 13 : Organisation schématique en trois couches du cortex cérébelleux	28
Figure 14 : Coupe médiane d'un encéphale de Chien.....	30
Figure 15 : Vue latérale gauche d'un encéphale de Chien.....	31
Figure 16 : Coupe médiane d'un encéphale de Chien montrant les commissures interhémisphériques.	32
Figure 17 : Coupe transversale d'un encéphale de Chien réalisée au niveau du télencéphale	33
Figure 18 : Vue ventrale d'un encéphale de Chien	34
Figure 19 : Vue dorsale d'un tronc cérébral de Chien après retrait du cerveau et du cervelet.....	35
Figure 20 : Deux coupes transversales (A et B) d'un encéphale de Chien réalisées au niveau du diencephale	36
Figure 21 : Coupe transversale d'un encéphale de Chien au niveau du collicule rostral (mésencéphale)	37
Figure 22 : Coupe transversale d'un encéphale de Chien au niveau métencéphale	38
Figure 23 : Coupe transversale d'un encéphale de Chien au niveau myélocéphale.....	39
Figure 24 : Aspect latéral d'un encéphale de Chien avec l'hémisphère cérébral gauche enlevé	40
Figure 25 : Vue latérale schématique du système ventriculaire du Chien.....	41
Figure 26 : Vues latérale gauche, dorsale et ventrale d'une tête osseuse de Chien.	42
Figure 27 : Cadre stéréotaxique élaboré pour l'espèce canine.....	47
Figure 28 : Aspect histologique à l'hémalun-éosine de la substance grise.....	50
Figure 29 : Variation de la morphologie neuronale en fonction du territoire neuroanatomique prélevé	51
Figure 30 : Aspect histologique à l'hémalun-éosine de la substance blanche.....	52
Figure 31 : Quelques exemples de préparations histologiques	54
Figure 32 : Quelques exemples de lésions du tissu nerveux.....	56
Figure 33 : Procédure d'étalement d'un prélèvement cytologique sur une lame	57
Figure 34 : Technique par écrasement (« Squash prep technique »)	58
Figure 35 : Aspect cytologique du tissu nerveux normal	61
Figure 36 : Aspect histologique des gliomes diffus du Chien	66
Figure 37 : Aspect cytologique des gliomes diffus du Chien	68
Figure 38: Aspect microscopique des biopsies de cervelet.....	76

Figure 39 : Aspect histologique de la substance blanche (Encéphale fixé).....	77
Figure 40 : Aspect histologique de la substance blanche (Encéphale non fixé).....	78
Figure 41 : Aspect histologique de gyrus denté (Encéphale fixé)	80
Figure 42: Aspect histologique d'un plexus choroïde (Encéphale fixé).....	81
Figure 43 : Examen microscopique à faible grossissement (MGG ; X 20)	82
Figure 44 : Aspect cytologique neuronal et glial	83
Figure 45 : Satellitose (MGG ; X100)	84
Figure 46 : Microgliocyte spumeux (MGG ; X 100).....	84

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Les différents types de cellules gliales.....	19
Tableau 2 : Composition des six couches néocorticales	27
Tableau 3 : Composition des trois couches du cortex cérébelleux	28
Tableau 4 : Récapitulatif des prélèvements réalisés.....	74

LISTE DES ABREVIATIONS

G : Gauges
 GFAP : Glial Fibrillary Acidic Protein
 HE : Hémalun-Eosine
 IRM : Imagerie par Résonance Magnétique
 LCS : Liquide Cérébro-Spinal
 MGG : May Grunwald Giemsa
 OMS : Organisation Mondiale de la Santé
 SNC : Système Nerveux Central
 TDM : TomoDensiMétrie

INTRODUCTION

L'analyse histologique de prélèvements cérébraux est un examen complémentaire rarement réalisé chez le chien. La cytologie cérébrale, bien que validée et utilisée en médecine humaine, est un outil mal connu en médecine canine. Ces examens microscopiques sont pourtant nécessaires à l'établissement du diagnostic définitif quant à la nature d'une lésion intracrânienne. Dans le cas des tumeurs cérébrales, ils permettent en particulier de définir le type et le grade tumoral.

Le développement des outils microscopiques présente un intérêt en médecine individuelle mais également en médecine translationnelle : le Chien s'avère être un modèle spontané pertinent de tumeurs gliales diffuses pour l'Homme chez qui ces tumeurs, en particulier le glioblastome, ont un pronostic sombre, qui n'évolue pas, et constituent un enjeu thérapeutique. Le modèle canin pourrait permettre l'évaluation de l'efficacité de nouvelles stratégies de traitement. Ces études nécessitent le recrutement de chiens atteints de gliomes et la mise en place d'une démarche diagnostique semblable à celle décrite en médecine humaine : suspicion clinique, examen d'imagerie médicale, examens microscopiques. La première étape indispensable est la mise en place des outils d'imagerie et d'histologie/cytologie chez le chien sain.

Le sujet de ce travail porte sur la réalisation d'une étude de faisabilité dont l'objectif est l'évaluation de la qualité du matériel tissulaire et cellulaire issu de biopsies et cytoponctions échoguidées d'encéphale de chiens sains.

Dans une première partie, une revue de la littérature permettra de détailler les différents éléments du sujet. Tout d'abord, l'anatomie macroscopique, histologique et cytologique de l'encéphale de Chien sera détaillée, depuis le développement embryonnaire, la formation des différentes lignées cellulaires du système nerveux central, leur organisation en tissu nerveux et la répartition tissulaire permettant l'organisation anatomo-fonctionnelle. Dans un second temps, il sera fait un état de l'art sur la réalisation des examens histologiques et cytologiques cérébraux chez le Chien. Un point particulier sera fait sur leur intérêt potentiel au sein du modèle canin de gliomes spontanés en oncologie comparée.

Dans une deuxième partie, le contexte d'étude, le protocole expérimental et les résultats de l'étude seront présentés et discutés.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Anatomie, histologie et cytologie de l'encéphale du Chien

Le système nerveux permet à l'organisme d'entrer en relation avec le milieu extérieur et de coordonner tous les autres appareils pour assurer son unité.

L'encéphale appartient, avec la moelle spinale, au système nerveux central (SNC). Celui-ci est le lieu d'intégration de l'information : réception des afférences sensibles et formation d'une efférence motrice.

Dans cette partie, nous allons comprendre comment se développe le système nerveux central, et plus particulièrement l'encéphale. Nous verrons ensuite quelles sont les cellules qui le composent, comment elles s'organisent en tissus pour former les différents compartiments de l'encéphale chez le Chien.

1. Développement du système nerveux central

1.1. Neurulation

Au cours du développement embryonnaire, trois couches de cellules se forment : la plus superficielle est appelée l'ectoderme, la plus profonde l'endoderme et la couche intermédiaire est appelée le mésoderme. Un épaissement de l'ectoderme, le **neuroectoderme**, forme un relief appelé la plaque neurale, qui s'invagine progressivement pour former le sillon neural puis le **tube neural**, parcouru en son centre par un canal, le **canal neural**. Ce processus est appelé la neurulation. Lorsque le tube neural se forme, il se sépare de l'ectoderme. Lors de cette séparation, les crêtes neurales se détachent et se fragmentent pour former la chaîne de ganglions.

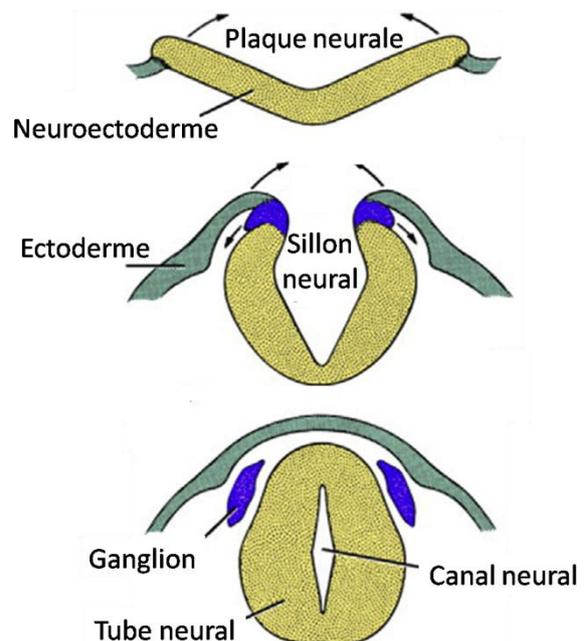


Figure 1 : Neurulation

Schéma adapté à partir de « De Lahunta, Glass, Kent 2016 »

1.2. Formation de l'encéphale

La partie rostrale du tube neural se développe pour former l'encéphale. Trois renflements apparaissent d'abord, qui sont les trois vésicules primitives : prosencéphale, mésencéphale et rhombencéphale. La première vésicule donnera le télencéphale et le diencephale, la deuxième restera le mésencéphale et la dernière formera le métencéphale et le myélocéphale.

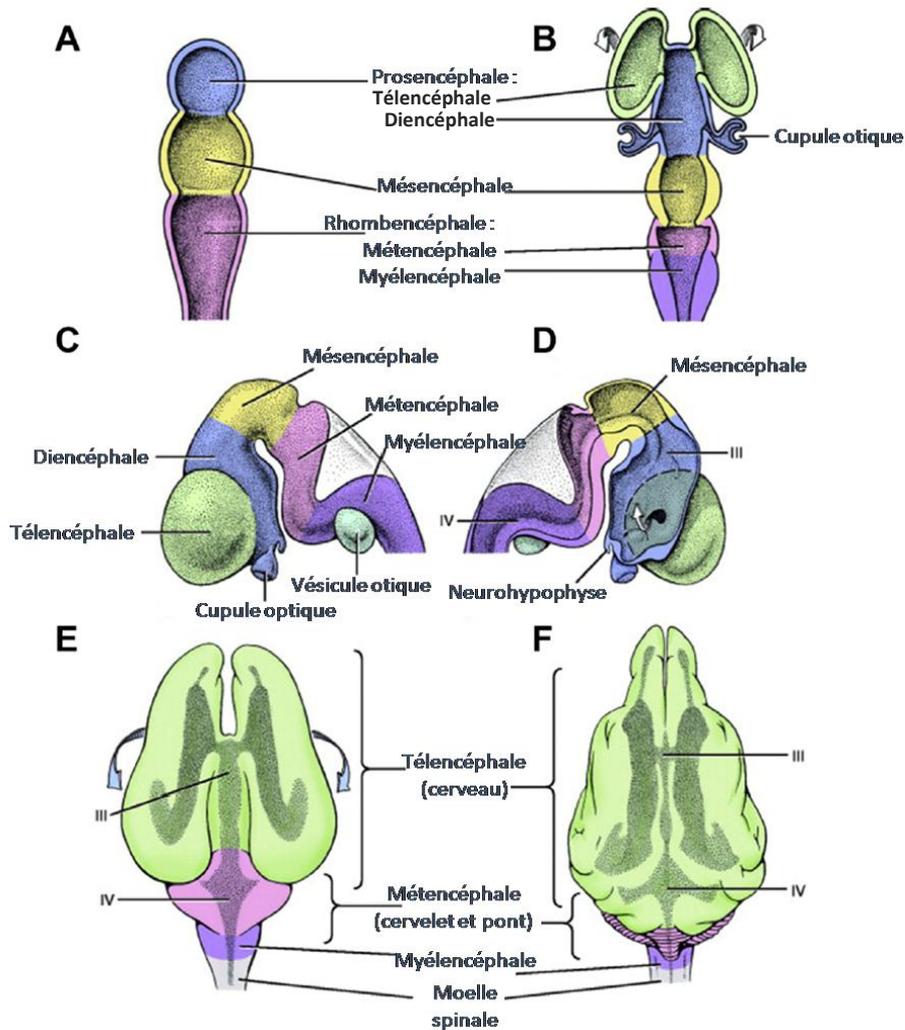


Figure 2 : Développement des vésicules de l'encéphale

Schéma adapté à partir de « De Lahunta, Glass, Kent 2016 »

A : Stade 3 vésicules ; B-F : Stade 5 vésicules ; III, IV : ventricules

Le télencéphale se développe en deux hémisphères qui recouvrent le reste de l'encéphale et forment le cerveau. Le diencephale est associé aux vésicules optiques. Le mésencéphale se situe en continuité. Le métencéphale forme le cervelet dans sa partie dorsale et le pont dans sa partie ventrale. Le myélocéphale constitue la moelle allongée.

Le tube neural est creusé en son centre par le canal neural dont la lumière s'élargit dans les vésicules pour former les ventricules.

1.3. Evolution de l'épithélium du tube neural

Au niveau cellulaire et tissulaire, le bon développement de l'encéphale nécessite les bons tissus au bon moment et au bon stade de développement. La paroi du tube neural correspond à un épithélium pseudostratifié de cellules neuroectodermiques à l'origine des différentes lignées cellulaires du tissu nerveux. Les divisions cellulaires conduisent à la formation de trois couches :

- La couche profonde, appelée couche germinale ou zone ventriculaire, est le siège des divisions cellulaires. L'épuisement de la capacité mitotique des cellules germinales conduit à la formation des **épendymocytes**, cellules gliales formant l'épithélium bordant la lumière du futur système ventriculaire de l'encéphale.
- La couche intermédiaire, appelée couche palliale, contient les cellules en cours de différenciation. Elles sont de deux types : les **neurones immatures**, qui développent des expansions cellulaires et perdent la capacité de division cellulaire, et les spongioblastes, à l'origine de deux types de cellules gliales, les **oligodendrocytes** et les **astrocytes**. La couche palliale deviendra la substance grise du système nerveux central, c'est-à-dire le compartiment tissulaire comportant les corps cellulaires neuronaux (cf 3.1. Substance grise).
- La couche la plus superficielle du tube neural est la couche marginale, formée par les axones myélinisés des neurones de la couche palliale. Elle représente la future substance blanche du système nerveux central (cf. 3.2 Substance blanche).

Le quatrième et dernier type de cellules gliales est la **microglie**, d'origine mésodermique, qui pénètre le système nerveux central par voie sanguine.

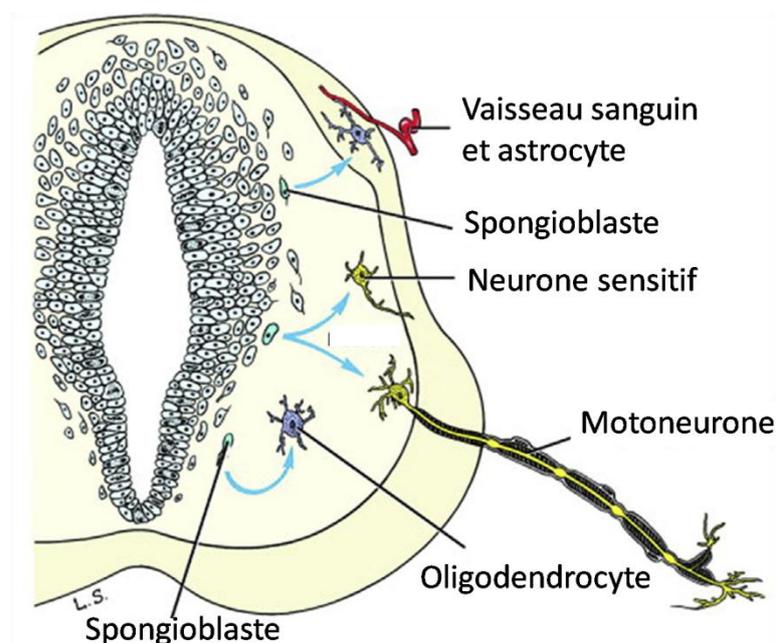


Figure 3 : Différenciation de l'épithélium neural

Schéma adapté à partir de « De Lahunta, Glass, Kent 2016 »

2. Les cellules du système nerveux central

Le tissu nerveux est constitué de deux types cellulaires :

- Les **neurones** représentent l'unité fonctionnelle du système nerveux.
- Les cellules de la **névroglie** (également appelée neuroglie ou glie) ont un rôle de soutien. Dans le SNC, les cellules gliales sont représentées par les épendymocytes (issus de la couche germinale du tube neural), les oligodendrocytes et astrocytes (issus de la couche palliale du tube neural) et les cellules de la microglie (d'origine mésodermique, *cf. ante*).

Le tissu nerveux est vascularisé et entouré de méninges.

2.1. Neurones

Les neurones sont des cellules fondamentales dans le SNC car ils sont le support fonctionnel du message nerveux. Le neurone reçoit des signaux chimiques, les neurotransmetteurs. Il les intègre et il est responsable de la genèse et de la conduction d'un signal électrique, le potentiel d'action, qui correspond à la dépolarisation de la membrane cellulaire par modification du gradient ionique. Ceci conduit à la libération d'un nouveau signal chimique pour une cellule effectrice (un autre neurone, une cellule musculaire ou une cellule cardiaque). La transmission du message nerveux d'un neurone à l'autre se fait au niveau des synapses.

La structure d'un neurone (**Figure 4A**) est composée d'un corps cellulaire (ou **soma**) et d'expansions cytoplasmiques (les fibres nerveuses) de deux types : les dendrites (multiples) et l'axone (unique). Le corps cellulaire comporte un **noyau** central, rond et volumineux ainsi qu'un cytoplasme périphérique appelé **péricaryon**. Les **dendrites** sont de fins prolongements ramifiés. L'**axone** est également un prolongement du corps cellulaire, de diamètre supérieur à celui des dendrites, et dont la longueur peut être très importante. Il émerge de la **zone d'implantation de l'axone** et se termine par un ou plusieurs boutons terminaux (boutons synaptiques). La taille des neurones est variable : par exemple, dans le cortex, on retrouve principalement des neurones de grande taille mais il y en a également des petits, notamment des interneurones (Gould 2007).

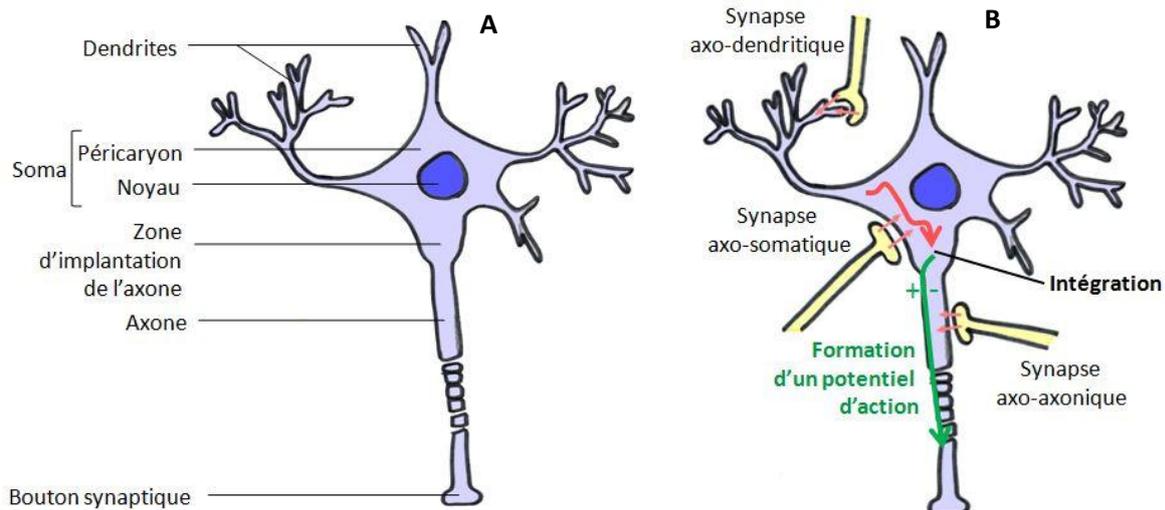


Figure 4 : Schémas de la structure (A) et de la polarité neuronale (B)

Image personnelle

La structure du neurone est dite polarisée (**Figure 4B**) car le message nerveux arrive au niveau des dendrites le plus souvent (synapse axo-dendritique), au niveau du corps cellulaire (synapse axo-somatique) ou bien parfois directement au niveau de l'axone (synapse axo-axonique); puis il est toujours conduit en direction de l'axone, avec intégration et formation ou non d'un potentiel d'action (dépolérisation de la membrane qui se transmet de proche en proche) qui se déplace le long de l'axone en direction du bouton synaptique (Bertrand 2012; Stevens 1993a; Young, Heath, Wheater 2008).

En fonction du nombre et de l'organisation des dendrites (l'axone étant quant à lui toujours unique), il existe plusieurs types de neurones (**Figure 5**). Les plus fréquemment rencontrés sont les neurones multipolaires, auxquels appartiennent les neurones moteurs. Les autres types de neurones rencontrés sont les neurones bipolaires (par exemple les neurones récepteurs de l'odorat) et les neurones pseudo-unipolaires (neurones sensitifs primaires).

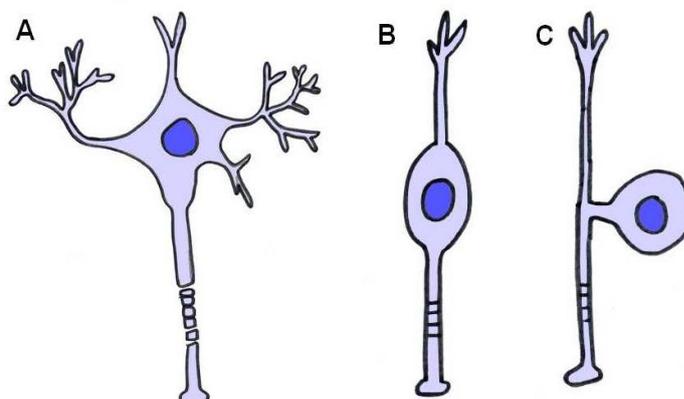


Figure 5 : Schéma des différents types de neurones

Image personnelle

A : Neurone multipolaire ; B : Neurone bipolaire ; C : Neurone pseudo-unipolaire

L'ultrastructure du neurone (**Figure 6**) témoigne de son activité métabolique intense. Le noyau est volumineux, souvent situé au centre du péricaryon. La chromatine est dispersée et le nucléole est bien visible, signe d'une activité intense de traduction. Le réticulum endoplasmique granuleux (REG) est volumineux. Il est appelé **corps de Nissl** (ou **substance chromatophile**). Il est présent dans le péricaryon et les dendrites mais absent dans l'axone : les protéines axonales proviennent et sont dégradées dans le soma. L'appareil de Golgi est volumineux, diffus et situé à proximité du noyau. Les tubules, vésicules et citernes (réticulum endoplasmique lisse) sont présents en grande quantité dans les dendrites et l'axone seulement. Les mitochondries sont très nombreuses dans le péricaryon, elles sont également présentes dans l'axone.

Le cytosquelette du neurone est développé et joue deux rôles fondamentaux : maintien de la forme du neurone (**neurofilaments**) et transport axonal des substances et organites (**neurotubules**). Au niveau des synapses (i.e. jonctions cellulaires permettant la transmission du message nerveux), on peut observer un feutrage de fines fibrilles permettant de maintenir la stabilité de la membrane post-synaptique, appelé **réseau post-synaptique**.

Les synapses sont constituées par le bouton synaptique du neurone pré-synaptique, par une fente synaptique étroite (20 nm) et par la membrane post-synaptique. Le bouton synaptique contient des mitochondries, des neurotubules et neurofilaments, ainsi que des vésicules synaptiques contenant des neurotransmetteurs, libérés par exocytose dans la fente synaptique suite à l'arrivée du potentiel d'action.

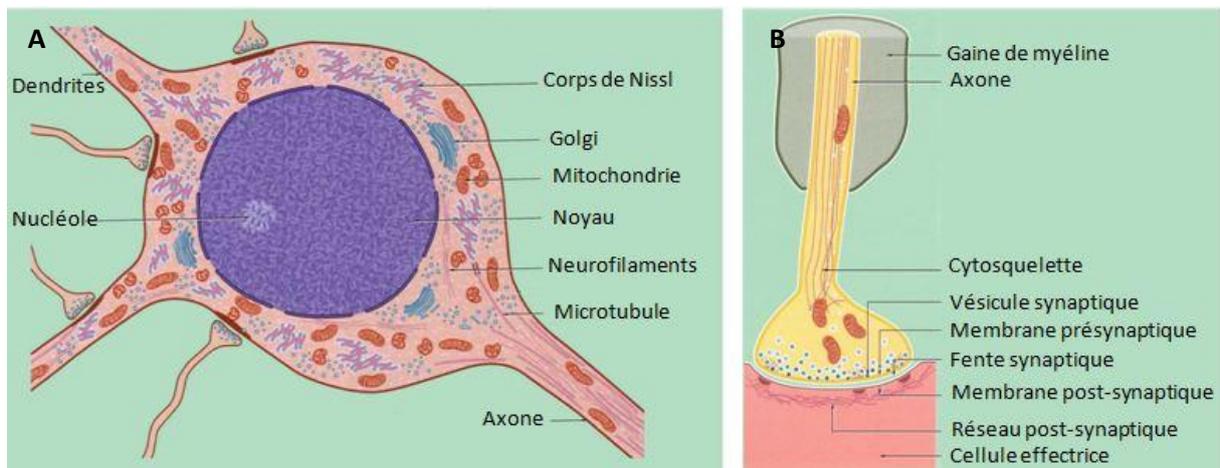


Figure 6 : Ultrastructure du neurone (A) et d'une synapse (B)

Schéma issu de « Young et al. 2010 »

Ainsi, les neurones sont des cellules hautement différenciées. Leur survie dépend des autres neurones avec lesquels ils établissent des connexions, en particulier, la perte permanente de synapse entraîne une atrophie neuronale (perte de cytoplasme et réduction de taille), (Jubb et al. 2015). La mise en place des circuits neuronaux a lieu autour de la naissance, les neurones surnuméraires sont éliminés par un mécanisme d'apoptose. Le nombre de neurones diminue ensuite au cours de la vie adulte à cause de la dégénérescence cellulaire. On retrouve cependant des zones dans l'encéphale qui continue à générer des neurones dans le cerveau sain : le gyrus denté et la zone subventriculaire (murs latéraux des ventricules latéraux, avec migration vers le bulbe olfactif) sont aujourd'hui reconnus pour cette fonction (Gould 2007; Alvarez-Buylla, Garcia-Verdugo 2002; Jubb et al. 2015; De Lahunta, Glass, Kent 2016). En cas de lésion, la neurogenèse est augmentée dans ces deux zones (**Figure 7**). Elle est également détectée dans d'autres zones, comme le néocortex ou le striatum, sujettes à controverse sur leur nature neurogène en situation saine (Gould 2007). De plus, la régénération d'axones et de dendrites est possible quand le corps cellulaire du neurone n'a pas subi de lésion (Young et al. 2010).

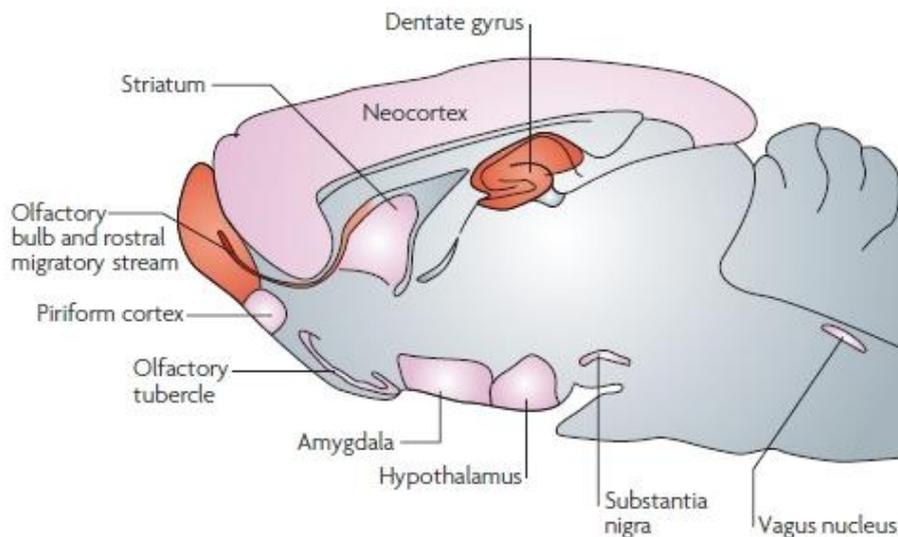


Figure 7 : Zones neurogènes (schéma d'une coupe sagittale d'encéphale de rat)

Schéma issu de « Gould 2007 »

En rouge : le gyrus denté et la zone subventriculaire (migration rostrale vers le bulbe olfactif) génèrent des neurones dans le cerveau sain tout au long de la vie.

En rose : il s'agit de zones pour lesquelles le potentiel neurogène a été démontré en cas de lésion mais qui reste controversé en situation saine.

Amygdala : Amygdale, Dentate gyrus : Gyrus denté, Olfactory bulb and rostral migratory stream : bulbe olfactif et mouvement migratoire rostral, Olfactory tubercle : tubercule olfactif, Piriform cortex : cortex piriforme.

2.2. Cellules gliales du système nerveux central

Il y a très peu de matériel extracellulaire dans le SNC, le peu de collagène présent est cantonné à la périphérie des vaisseaux sanguins (Young et al. 2010). La névroglie occupe donc les espaces entre les neurones et sert de soutien. La névroglie représente l'ensemble des autres cellules du tissu nerveux, soit près de la moitié de la masse totale du SNC. Elle a un rôle de support métabolique et structural pour les neurones et comprend quatre types cellulaires : astrocytes, oligodendrocytes, épendymocytes, cellules microgliales. Les trois premiers types appartiennent à la macroglie et ont une origine neuro-épithéliale tandis que la microglie a une origine mésenchymateuse (cf. 1.3 Evolution de l'épithélium du tube neural).

Tableau 1 : Les différents types de cellules gliales

Origine embryonnaire	Cellule gliale	Types	Caractéristiques
Neuroectoderme (Macroglie)	Astrocyte <i>Morphologie : Noyau ovale, forme étoilée</i>	Protoplasmique	Prolongements nombreux ramifiés Présents dans la substance grise
		Fibreux	Prolongements peu nombreux droits Présents dans la substance blanche
	Oligodendrocyte <i>Morphologie : Petit noyau arrondi et dense</i>	Satellite	Présents dans la substance grise
		Interfasciculaire	Prolongements en continuité avec la gaine de myéline Présents dans la substance blanche
	Épendymocyte	Ependymocytes de la strate épendymaire	Epithélium simple cuboïde à cylindrique, avec microvillosités et cils, dépourvu de membrane basale
		Ependymocytes choroïdiens	Epithélium simple cuboïde à cylindrique, avec de nombreuses microvillosités, dépourvu de membrane basale
Mésoderme (Microglie)	Microgliocyte <i>Morphologie : Petit noyau cunéiforme</i>	« Rod cells »	M. activé, noyau en bâtonnet
		Spumeux	M. activé, vésicules de phagocytose

2.2.1. Astrocytes

Les astrocytes occupent en grande partie l'espace interstitiel du SNC, assurant un rôle de support mécanique du tissu nerveux. Ils ont de nombreuses autres fonctions qui varient en fonction de leur localisation :

- Ils interviennent dans les échanges métaboliques entre le sang et les neurones et régulent l'équilibre électrolytique et osmotique entre le neurone et le milieu extracellulaire.
- Ils permettent l'isolation des synapses et nœuds de Ranvier.
- Ils ont un rôle trophique pour les autres cellules : notamment, ils sont une source de cytokines et de facteurs de croissance qui supportent l'activité neuronale. Ils interviennent pour guider la migration des neurones depuis leur zone de formation jusqu'à leur destination et pour guider le développement des axones.
- Les astrocytes sont les principales cellules intervenant dans la cicatrisation du tissu cérébral.
- Ils interviennent également dans la détoxification de l'ammoniac et probablement dans celle d'autres métabolites (Jubb et al. 2015).

Les astrocytes ont un noyau rond à ovale, dont la taille est proche de celle d'un noyau de petit neurone. Ils ont une forme étoilée liée à leurs nombreux prolongements cytoplasmiques.

Selon leur structure, on distingue deux types d'astrocytes :

- Les **astrocytes fibreux** ont peu de prolongements, lesquels sont rectilignes, riches en éléments du cytosquelette. Ils sont situés aux côtés des axones (dans la substance blanche).
- Les **astrocytes protoplasmiques**, quant à eux, ont de nombreux prolongements courts et très ramifiés. Ils se situent aux côtés des corps cellulaires des neurones (dans la substance grise).

En outre, selon la localisation des astrocytes, leurs prolongements participent à la formation des membranes gliales limitantes (**Figure 8**):

- **Membrane gliale limitante superficielle** ou revêtement astrocytaire marginal pour les expansions au contact de la membrane basale de la pie-mère ;
- Membrane gliale limitante périvasculaire ou **barrière hémato-méningée** pour les expansions astrocytaires se terminant sur la membrane basale des capillaires sanguins ;
- **Membrane gliale limitante périventriculaire** au contact des épendymocytes.

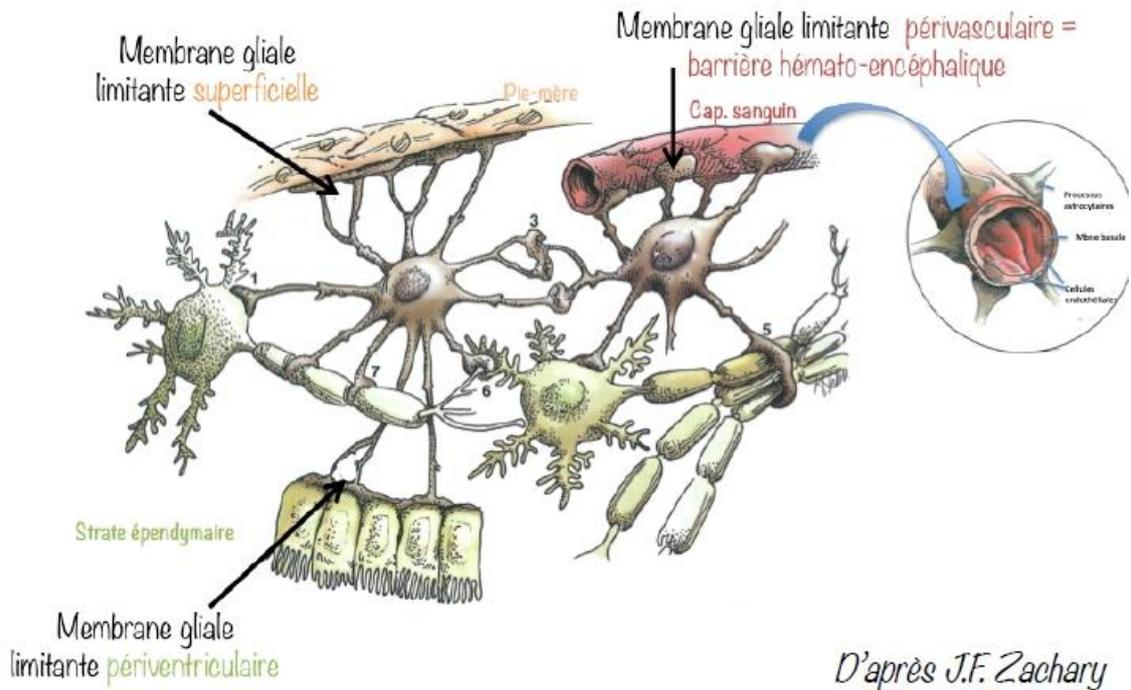


Figure 8 : Schéma des membranes gliales
 Illustration réalisée à partir de « Zachary 2012 »

L'ultrastructure des astrocytes est assez simple. Le cytoplasme montre peu d'organites : il y a de nombreux ribosomes mais le réticulum endoplasmique rugueux est peu développé. Il contient également quelques mitochondries et lysosomes. Le cytosquelette en revanche est présent de façon importante avec de nombreux faisceaux de filaments intermédiaires et des microtubules. Un centrosome (centre organisateur des microtubules) est parfois visible (Jubb et al. 2015).

En cas de lésion cellulaire sur les astrocytes ou les cellules qui les entourent, un phénomène d'activation astrocytaire se met en place. Le cytoplasme s'hypertrophie, certaines cellules présentent deux noyaux ou plus et il y a une prolifération des astrocytes et de leurs prolongements (astroglie).

2.2.2. Oligodendrocytes

Les oligodendrocytes sont des cellules au contact des neurones que l'on peut classer en deux populations (**Figure 9**) :

- Les **oligodendrocytes satellites** se situent autour des corps cellulaires neuronaux (dans la substance grise du SNC). Ils sont supposés avoir un rôle de régulation du microenvironnement neuronal. En cas de perturbation, ces oligodendrocytes prolifèrent au contact du corps cellulaire neuronal et s'hypertrophient : ce phénomène s'appelle la « satellitose ».

- Les **oligodendrocytes interfasciculaires** se situent dans la substance blanche, par rangée entre les axones. Ils en assurent la nutrition et la myélinisation dans le cas où leur diamètre est supérieur au micromètre (Jubb et al. 2015). La myéline est un isolant permettant d'augmenter la vitesse de conduction des axones en minimisant les fuites de courant. La gaine de myéline d'un axone est constituée d'une succession de portions myélinisées (zones internodales), séparées par des zones de jonction non myélinisées (nœuds de Ranvier).

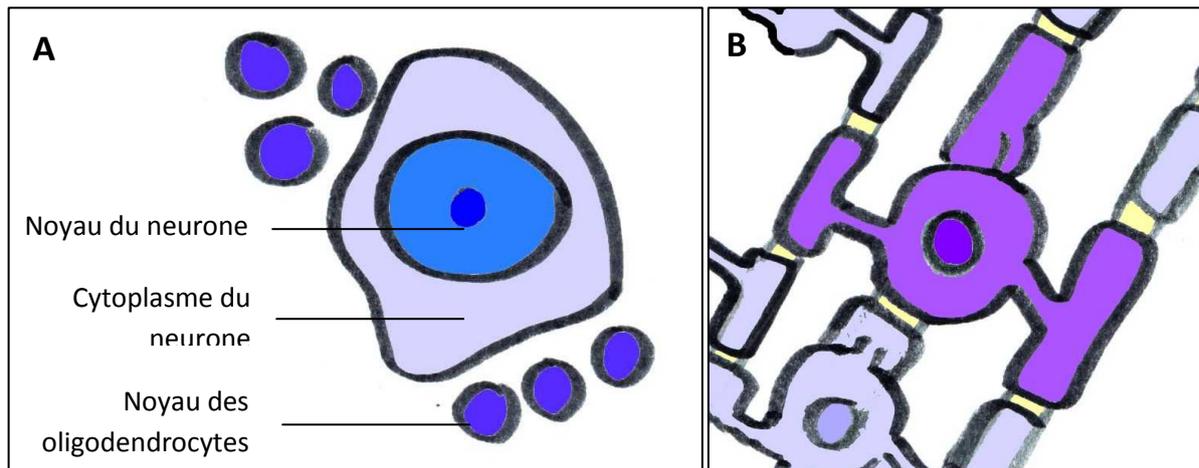


Figure 9 : Les différents types d'oligodendrocytes

Images personnelles

A : Oligodendrocytes satellites, schéma d'une figure histologique de satellitose : en cas de perturbation du microenvironnement neuronal, les oligodendrocytes satellites prolifèrent à la périphérie du corps cellulaire neuronal.

B : Oligodendrocytes interfasciculaires, schéma de la formation de la gaine myéline. La gaine de myéline est une succession de zones internodales formées par des oligodendrocytes différents. L'espace entre deux zones internodales est le nœud de Ranvier. Chaque oligodendrocyte forme des zones internodales sur plusieurs axones.

D'un point de vue structural, les oligodendrocytes sont des cellules de plus petite taille que les astrocytes, avec un noyau arrondi dense. Ils ont de nombreuses expansions les connectant aux gaines de myéline formées. D'un point de vue ultrastructural, on observe de nombreux ribosomes et microtubules dans l'oligodendrocyte. L'appareil de Golgi est développé (Young et al. 2010). L'oligodendrocyte a un rôle important dans le renouvellement des protéines et des lipides qui constituent la gaine de myéline (Jubb et al. 2015).

Un oligodendrocyte peut établir des zones internodales de myéline avec de nombreux axones (jusqu'à 50) d'un même nerf ou de nerfs différents. La formation de la gaine de myéline commence par l'invagination d'un axone dans le cytoplasme de l'oligodendrocyte, formant un mésaxone (espace virtuel entre les deux) qui s'enroule autour de l'axone de manière à former des couches concentriques de cytoplasme et de membrane plasmique. Puis le cytoplasme est éliminé et les membranes plasmiques fusionnent (Young et al. 2010).

En microscopie électronique, on peut observer des lignes sombres, appelées lignes denses majeures et des lignes intercalaires. Les lignes sombres correspondent à la fusion des feuillettes cytoplasmiques des membranes par une protéique basique de la myéline tandis que les lignes intercalaires correspondent à l'apposition des feuillettes externes par une protéine protéolipidique (Jubb et al. 2015, Young et al. 2010).

Les nœuds de Ranvier apparaissent comme un étranglement non recouvert de myéline. Chaque ligne dense majeure forme une petite boucle contenant du cytoplasme, signant la fin de la myéline qui s'amincit progressivement. Les cytoplasmes des deux oligodendrocytes voisins sont accolés.

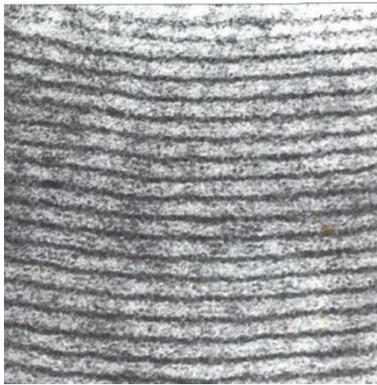


Figure 10 : Ultrastructure de la myéline

Illustration issue de « (Stevens 1993a) »

Microscopie électronique

Les lignes sombres sont les lignes denses majeures (fusion des feuillettes cytoplasmiques). Entre elles se trouvent les lignes intercalaires (fusion des feuillettes externes).

2.2.3. Ependymocytes

– Ependymocytes de la strate épendymaire

Ce sont les cellules épithéliales qui tapissent les ventricules. Elles sont de forme cubique ou cylindrique et ont un petit noyau au pôle basal, contenant une chromatine dense. Elles sont unies par des complexes jonctionnels (desmosomes). Sur le bord apical au contact du liquide cérébro-spinal, elles portent des cils et des microvillosités. Du côté basal, elles ne reposent pas sur une membrane basale comme d'autres cellules épithéliales mais sont constituées d'expansions cytoplasmiques qui se ramifient dans une couche sous-jacente constituée par les prolongements astrocytaires de la membrane gliale limitante périventriculaire (**Figure 8**).

– Ependymocytes choroïdiens

La partie gliale des plexus choroïdes est formée par des épendymocytes spécialisés dans l'ultrafiltration du sang pour la formation du liquide cérébro-spinal. Il s'agit de cellules épithéliales cylindriques, unies par des complexes de jonctions, reposant sur une lame basale au contact des plexus sanguins, avec des microvillosités au pôle apical. Elles sont spécialisées pour la sécrétion.

2.2.4. Microgliocytes

Les cellules de la microglie sont des cellules mésenchymateuses immunitaires. Elles appartiennent au système monocyte-macrophage. Leur morphologie s'apparente à des cellules présentatrices d'antigène : elles assurent la reconnaissance des antigènes, la libération de cytokines pour le recrutement des autres cellules et elles peuvent aussi assurer la phagocytose, notamment la phagocytose des neurones dégénérés (processus appelé neuronophagie). La microglie est présente autour des corps cellulaires neuronaux et autour des vaisseaux sanguins.

Des macrophages sont aussi présents dans le cerveau mais ils sont restreints autour des capillaires sanguins ou sont adhérents aux surfaces épendymaires.

Les microgliocytes sont de petite taille. Le cytoplasme est réduit et présente de nombreuses ramifications fines (**Figure 11**). Leur noyau est petit et cunéiforme (coin, virgule). En cas d'activation, le noyau devient rond, le cytoplasme augmente et des nodules de trente à quarante cellules se forment. Les microgliocytes peuvent présenter d'autres morphologies lors d'activation : noyau en bâtonnet ou bien encore cytoplasme spumeux (vacuoles lipidiques) lors de phagocytose.

D'un point de vue ultrastructural, on retrouve des plages de réticulum endoplasmique rugueux ainsi que des granules dans le cytoplasme.

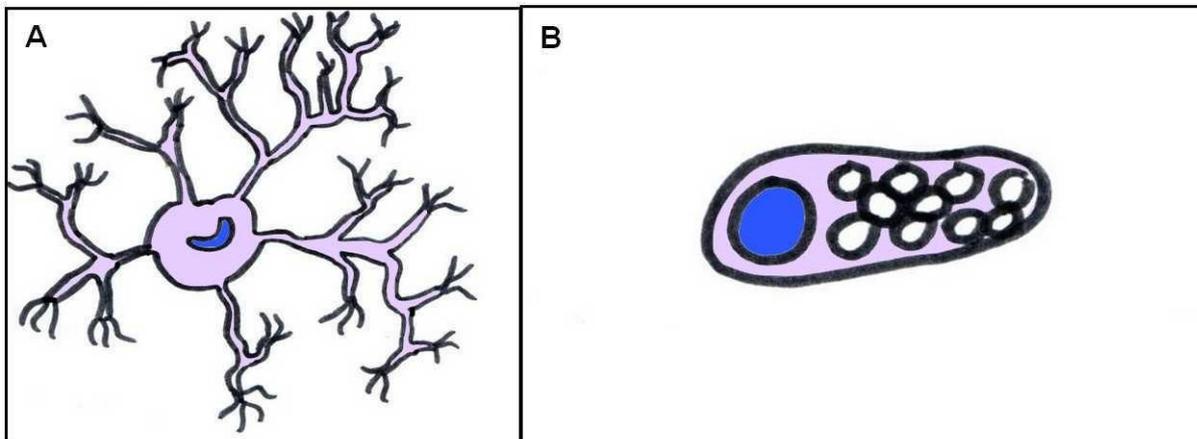


Figure 11 : Les différentes formes de microgliocytes

Images personnelles.

A : Schéma de la structure d'un microgliocyte. Le noyau (bleu) est en forme de virgule (cunéiforme) ; le cytoplasme présente de nombreuses ramifications fines.

B : Aspect schématique d'un microgliocyte spumeux : lors de phagocytose, le noyau devient rond et le cytoplasme se remplit de vacuoles lipidiques.

3. Organisation tissulaire du système nerveux central

Le SNC est composé de deux compartiments :

- La substance grise est le compartiment dédié à l'intégration des informations nerveuses car il regroupe les corps cellulaires neuronaux dont c'est le rôle.
- La substance blanche est le compartiment dédié à la conduction des messages nerveux car il regroupe les axones myélinisés.

Un mélange de corps cellulaires neuronaux au sein de fibres d'une large partie de la substance blanche est présent au sein de l'encéphale : il s'agit de la formation réticulaire.

3.1. Substance grise

3.1.1. *Composition et organisation cellulaire*

Elle contient les corps cellulaires neuronaux et des cellules gliales dont les plus nombreuses sont les astrocytes protoplasmiques (Young et al. 2010). Les oligodendrocytes satellites sont regroupés autour des corps cellulaires neuronaux. Les microglies sont présents de manière éparse.

Dans l'encéphale, la substance grise, issue de la couche palliale (cf. 1. Développement du système nerveux) est formée par :

- le cortex cérébral et le cortex cérébelleux ;
- les noyaux de substance grise, c'est-à-dire des groupes neuronaux où s'effectuent des relais et situés dans le tronc cérébral et les parties profondes du cerveau et du cervelet. Ces noyaux de substance grise sont qualifiés de primaires (ou segmentaires) lorsqu'ils sont en relation avec le système nerveux périphérique et de centres secondaires (ou supra-secondaires) lorsqu'ils contrôlent les premiers.

3.1.2. *Organisation corticale*

La substance grise en périphérie du cerveau et du cervelet est appelée cortex. Ce dernier est formé lors du développement embryonnaire par la migration des neurones de la couche palliale du tube neural vers la surface.

– Cortex cérébral :

Le cortex primitif (cortex olfactif) est composé de trois couches de corps cellulaires neuronaux tandis que le néocortex en comporte six (**Figure 12** et **Tableau 2**). Cinq types morphologiques de neurones sont présents dans le cortex cérébral (Young et al. 2010):

- Les cellules pyramidales : leur taille est variable, elles ont une forme de pyramide. Une dendrite épaisse et ramifiée est dirigée vers la surface du cortex. Un axone fin est dirigé vers la profondeur.
- Les cellules étoilées (ou grains) : il s'agit de petits neurones. Ils ont de multiples dendrites ramifiées et un axone vertical court.
- Les cellules de Martinotti : elles sont de petite taille, de forme polygonale avec quelques courtes dendrites et un axone dirigé vers la surface où il se divise en deux branches.
- Les cellules fusiformes : ces neurones ont la forme d'un fuseau perpendiculaire à la surface du cortex. Les dendrites sont situées à chaque bout du fuseau, l'axone naît d'un côté.
- Les cellules horizontales de Cajal : elles sont de petite taille, également de la forme d'un fuseau, orienté cette fois-ci de façon parallèle à la surface du cortex.

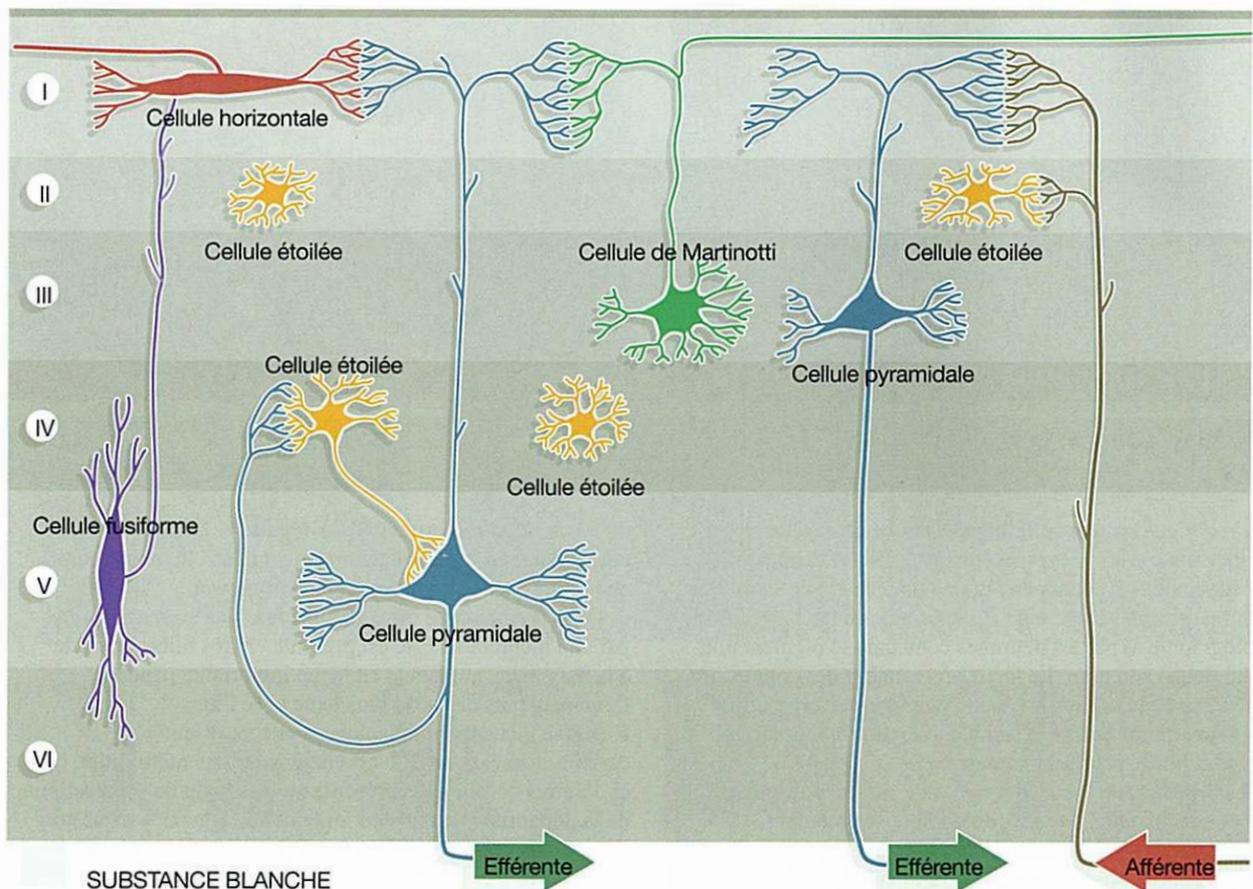


Figure 12 : Organisation schématique en six couches du néocortex

Illustration issue de l'ouvrage : « Young et al. 2010 ».

Le numéro des différentes couches de la **Figure 12** correspond au nom indiqué dans le tableau ci-contre.

Tableau 2 : Composition des six couches néocorticales

Données issues de l'ouvrage : « Young et al. 2010 ».

	Nom	Composition
I	Couche plexiforme ou moléculaire	- Dendrites et axones corticaux, synapses - Cellules horizontales de Cajal (rares) - Cellules de la névroglie
II	Couche granulaire externe	- Petites cellules pyramidales nombreuses - Cellules étoilées (grains) nombreuses - Axones et dendrites des couches profondes
III	Couche des cellules pyramidales	- Cellules pyramidales de taille moyenne
IV	Couche granulaire interne	- Cellules étoilées nombreuses
V	Couche ganglionnaire	- Grande cellules pyramidales - Cellules étoilées peu nombreuses - Cellules de Martinotti
VI	Couche multiforme	- Multiforme car grande variété de cellules - Cellules pyramidales, cellules étoilées, cellules de Martinotti, cellules fusiformes

– Cortex cérébelleux :

La structure du cortex cérébelleux est semblable en tout point de son étendue plissée, formant une succession de lamelles soutenues par de la substance blanche (Barone, Bortolami 2004). Il est composé de trois couches (**Figure 13** et **Tableau 3**). Cinq types morphologiques de neurones sont présents dans le cortex cérébral (Young et al. 2010; Barone, Bortolami 2004) :

- **Les cellules de Purkinje** (ou neurones piriformes) : il s'agit de très gros neurones, situés en profondeur, dont le corps cellulaire est piriforme : la partie large porte de départ d'un axone fin qui descend en profondeur et la partie étirée porte le départ d'une dendrite très ramifiée s'étendant vers la surface du cervelet.
- **Les neurones granulaires** (ou grains) : il s'agit de petits neurones situés en profondeur. Ils possèdent peu de dendrites courtes et un axone fin, amyélinique, dirigé vers la surface où il bifurque pour y cheminer de façon parallèle (fibres parallèles).
- Les neurones étoilés : il s'agit de petits neurones situés en surface, tout comme leurs dendrites et axone. L'axone est parallèle à la surface.
- Les neurones à corbeille : il s'agit de gros neurones, avec un noyau volumineux et peu de cytoplasme, des dendrites ramifiées dirigées vers la surface et un axone très long.
- Les cellules de Golgi : il s'agit de gros neurones, étoilés, situés en profondeur. Leurs dendrites font synapse dans les glomérules, tout comme leur axone, très court.

Les cellules gliales sont présentes sur toute l'épaisseur du cervelet, dominées par les astrocytes protoplasmiques. Un type particulier de ces derniers, propre au cervelet, est appelé « cellule de Bergmann », et se situe aux côtés des cellules piriformes.

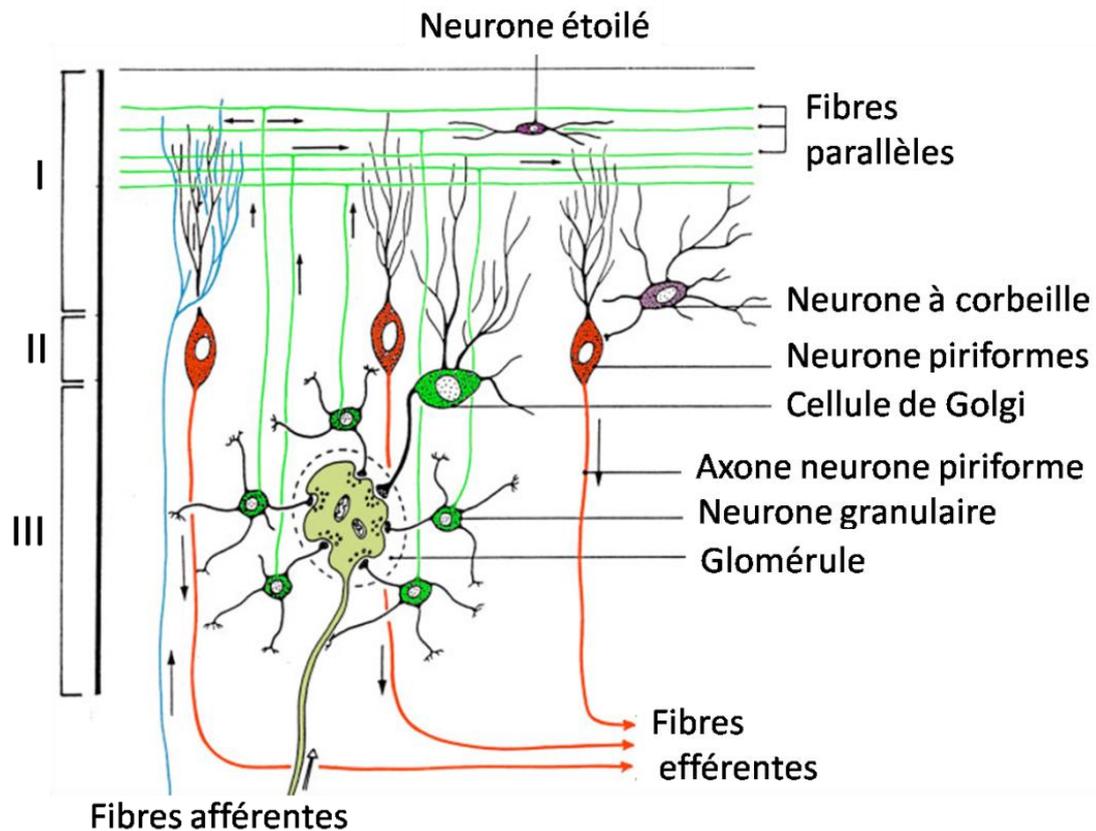


Figure 13 : Organisation schématique en trois couches du cortex cérébelleux
 Coupe selon l'axe d'une lamelle
Schéma adapté à partir de « Sautet 2014 »

Le numéro des couches de la **Figure 13** correspond au nom indiqué dans le **Tableau 3**.

Tableau 3 : Composition des trois couches du cortex cérébelleux

	Nom	Composition
I	Couche moléculaire	- Dendrites des neurones piriformes - Axones des cellules granulaires - Neurones étoilés et leurs fibres - Cellules à corbeille et leurs fibres
II	Couche des neurones piriformes	- Neurones piriformes - Cellules de Bergmann
III	Couche granulaire	- Très grande densité cellulaire - Neurones granulaires - Cellules de Golgi - Glomérule *

* Glomérule : formation synaptique complexe (neurones granulaires, cellules de Golgi, fibres afférentes moussues)

3.1.3. *Noyaux de substance grise*

Les noyaux de substance grise correspondant aux centres segmentaires sont les noyaux des nerfs crâniens : noyaux d'origine ou de terminaison selon qu'ils reçoivent ou émettent les fibres des nerfs crâniens.

Les noyaux de substance grise correspondant aux centres supra-segmentaires sont nombreux et servent de relais intermédiaires des circuits complexes qui relient les centres segmentaires aux centres supra-segmentaires. Quelques uns d'entre eux seront évoqués dans la partie conformation interne de l'encéphale, que ce soit dans le télencéphale (noyaux de la base), le diencephale (noyaux du thalamus), le mésencéphale (noyau rouge, substantia nigra, collicules,...), le métencéphale (noyaux du pont) ou myélocéphale (noyaux gracile et cunéiforme par exemple).

3.2. Substance blanche

La substance blanche contient les faisceaux d'axones (appelés aussi fibres nerveuses). Elle est dite blanche car les fibres nerveuses sont en grande partie myélinisées, or la myéline apparaît de couleur blanche macroscopiquement dans le tissu frais. La substance blanche contient également des oligodendrocytes interfasciculaires alignés le long des fibres nerveuses, des astrocytes fibreux et des microgliaocytes.

La substance blanche prend plusieurs dispositions dans l'encéphale :

- Les pédoncules permettent de rattacher ensemble les différentes parties de l'encéphale (cerveau-tronc cérébral et cervelet-tronc cérébral).
- Les éléments d'association permettent de lier les centres nerveux (substance grise) entre eux, de façon ipsilatérale ou controlatérale : il s'agit de commissures lorsque ces centres nerveux sont situés au même étage ou de décussation lorsqu'ils sont à différents étages.
- Les voies de conduction sont constituées par des faisceaux (groupes de fibres nerveuses), des tractus (groupes de fibres nerveuses de même fonction) et lemnisques (groupes de fibres nerveuses qui ont une forme aplatie).

3.3. Formation réticulaire

La formation réticulaire est composée de corps cellulaires neuronaux logés dans les mailles d'un réseau de fibres orientées en tout sens. En certains endroits, des groupes cellulaires sont présents, souvent désignés par le terme de noyaux (Barone 2010).

La formation réticulaire est présente dans le tronc cérébral. Elle forme trois zones : une colonne médiane dont les neurones libèrent de la sérotonine, interviennent dans le comportement affectif, le système limbique, et jouent un rôle analgésique ; deux colonnes médiales qui donnent naissance à des tractus réticulo-spinaux ; et deux colonnes latérales avec divers rôles, dont l'intervention dans l'éveil du cerveau et le système viscéral (Evans E 2013).

4. Organisation anatomo-fonctionnelle de l'encéphale et de ses enveloppes chez le Chien

4.1. L'encéphale

L'encéphale du Chien est composé du cerveau (télencéphale), du tronc cérébral (diencephale, mésencéphale, partie ventrale du métencéphale et myélocéphale) et du cervelet (partie dorsale du métencéphale). Les vésicules embryonnaires ont déjà été décrites (cf. 1.2 Formation de l'encéphale).

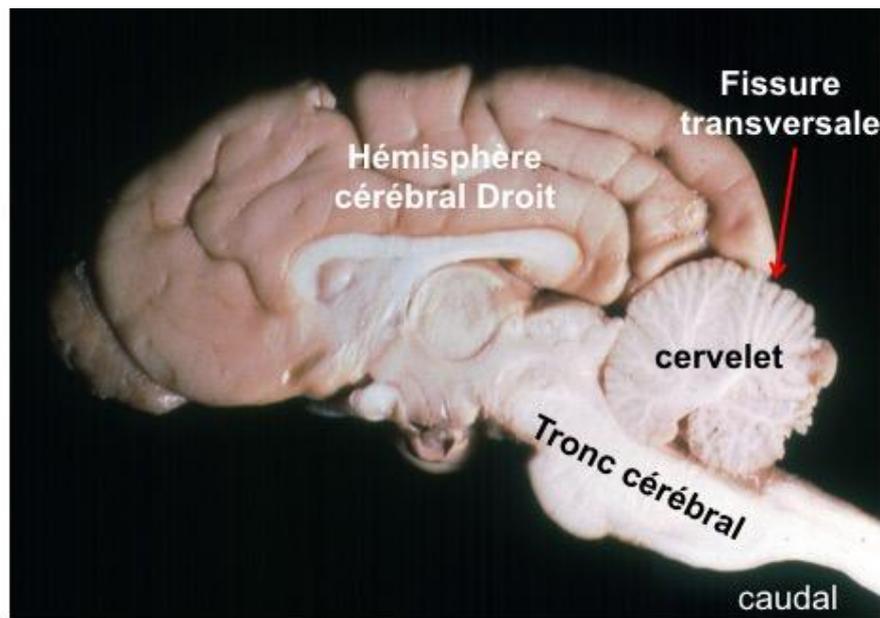


Figure 14 : Coupe médiane d'un encéphale de Chien

Illustration réalisée à partir d'une photographie fournie par l'unité pédagogique d'Anatomie de l'ENVT (Jean Sautet).

Le cerveau est composé de deux hémisphères cérébraux séparés entre eux par la fissure longitudinale. Caudalement, les deux hémisphères sont séparés du cervelet par la fissure transversale.

4.1.1. *Le cerveau*

Le télencéphale, ou cerveau, est l'organe d'intégration suprême : il reçoit les informations sensibles provenant de stimuli internes et externes au corps, il est également le point de départ des réponses motrices volontaires. Il contrôle l'ensemble des fonctions de l'organisme. Il est le siège des fonctions cognitives, de la mémoire et de la conscience.

– Conformation externe

Le cerveau peut être divisé en deux parties :

- La partie ventrale est appelée **rhinencéphale** en raison de sa fonction primitive olfactive. Elle intervient également de manière importante dans le système limbique, responsable des réactions primitives permettant la survie de l'individu et de l'espèce (fuite, prise de nourriture, comportement sexuel...). Le système implique également des circuits du néocortex et du tronc cérébral.
- La partie dorsale du cerveau est le **néocortex** ou **néopallium**. Elle s'est développée avec l'évolution et sa plus grande fonction est de réguler le système limbique.

Le cerveau possède deux hémisphères, avec pour chacun trois faces : une face convexe (dorsale et latérale), une face basale (ventrale) et une face médiale.

- La face convexe, latérale et dorsale, est représentée sur la **Figure 15**. Elle est majoritairement occupée par le néocortex qui, avec l'évolution, s'est fortement développé, repoussant le rhinencéphale (archicortex et paléocortex) en position ventrale.
- La face basale appartient au rhinencéphale. Les structures qui apparaissent sont impliquées dans l'olfaction. Ce sont (en commençant par le pôle rostral) : les **bulbes olfactifs**, les **pédoncules olfactifs**, les **tubercules olfactifs**, le **gyrus diagonalis**, le **lobe piriforme**.

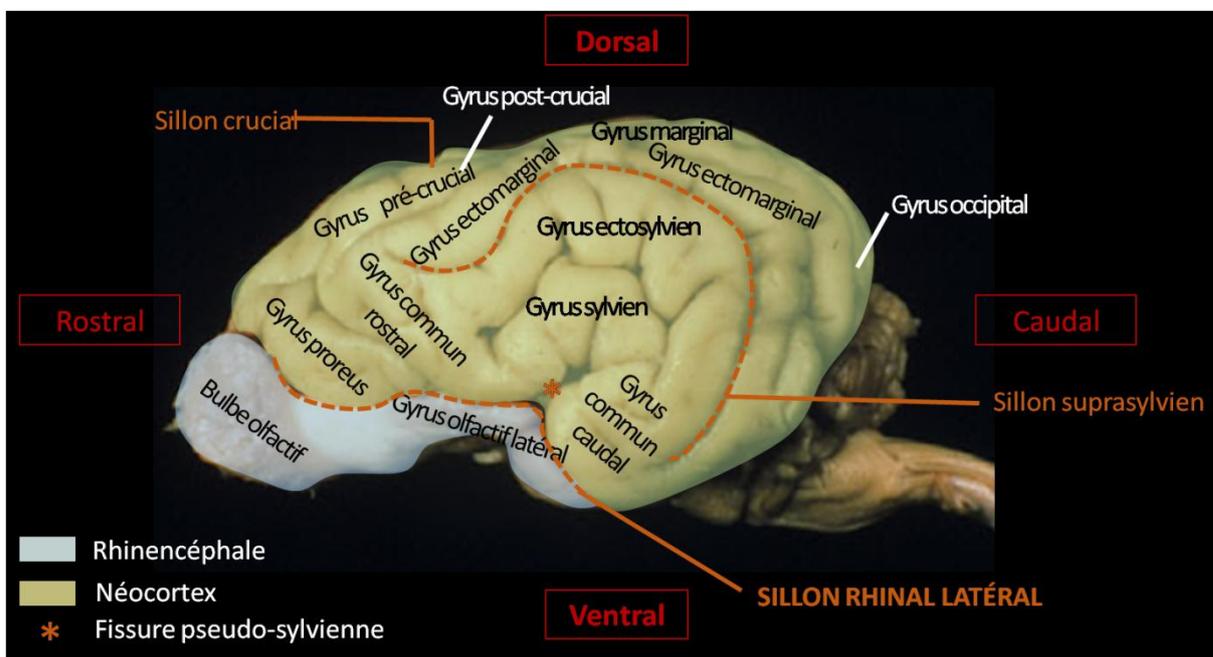


Figure 15 : Vue latérale gauche d'un encéphale de Chien.

Illustration réalisée à partir d'une photographie fournie par l'unité pédagogique d'Anatomie de l'ENVT (Jean Sautet).

La surface du cortex des hémisphères présente des **gyri** (bandes en surélévation) séparés par des sillons car le Chien est une espèce gyrencéphale. Des aires fonctionnelles spécialisées sont définies à la surface du néocortex. La fonction occupée peut être sensorielle, motrice ou associative et plusieurs aires coopèrent entre elles (aires primaires, aires secondaires). La limite entre le néocortex et le rhinencéphale est constituée par un profond sillon sur la face latérale : le **sillon rhinal latéral**.

- La face médiale est représentée sur la **Figure 16**. Cette face laisse apparaître les trois commissures inter-hémisphériques, quelques gyri du néocortex et les parties septale et limbique du rhinencéphale. La **commissure rostrale** (en bleu sur la **Figure 16**) est la plus archaïque, elle établit une connexion entre les parties rostrales du rhinencéphale. La deuxième commissure est constituée par les fibres transversales qui unissent les deux branches du **fornix** (en jaune sur la **Figure 16**). Il s'agit de la commissure de l'hippocampe, structure du rhinencéphale. Enfin, le **corps calleux** (en vert sur la **Figure 16**) est la commissure du néocortex.

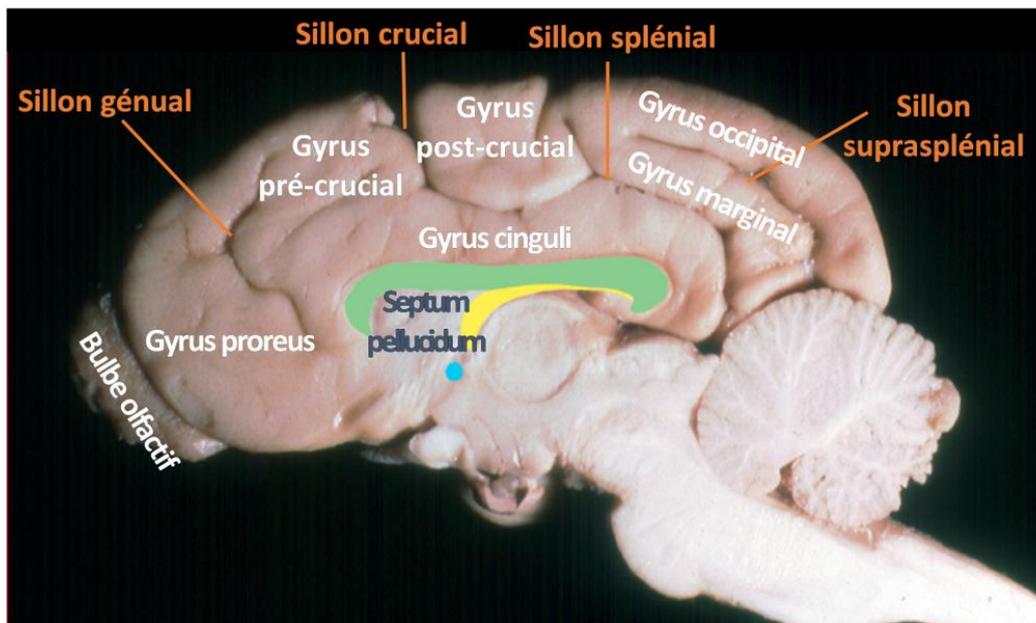


Figure 16: Coupe médiane d'un encéphale de Chien montrant les commissures interhémisphériques.

Illustration réalisée à partir d'une photographie fournie par l'unité pédagogique d'Anatomie de l'ENVT (Jean Sautet).

– Conformation interne

Les différentes structures d'intérêt de substance grise et substance blanche du télencéphale sont récapitulées dans la figure ci-dessous.

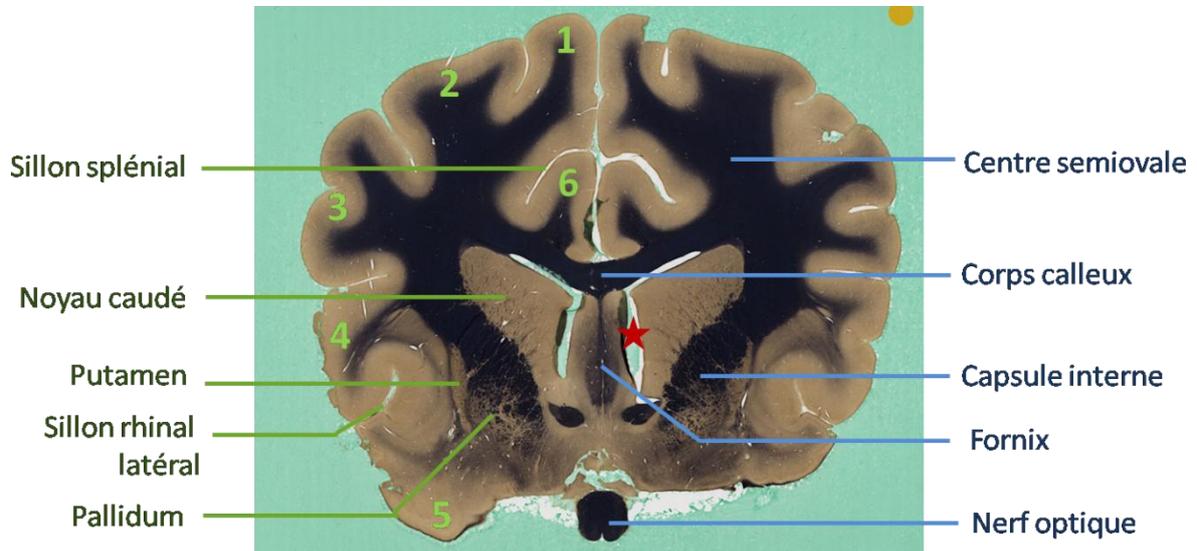


Figure 17 : Coupe transversale d'un encéphale de Chien réalisée au niveau du télencéphale

Illustration réalisée à partir d'une photographie fournie par l'unité pédagogique d'Anatomie de l'ENVT.

Sur ce type de préparation (coloration Weil-Myelin), la substance blanche apparaît noire.

Les structures de la substance grise (légendes de gauche) appartiennent au télencéphale. Elles comprennent des **noyaux** en profondeur et des **gyri** en surface, séparés par des **sillons**. Le corps strié est un complexe de plusieurs noyaux, séparés par des lames de substance blanche : le néostriatum (*noyau caudé et putamen*) et le *pallidum*, interviennent dans les voies de contrôle de la tonicité musculaire et de la coordination des mouvements.

1 : *Gyrus sagital* ; 2 : *Gyrus ectosagittal* ; 3 : *Gyrus ectosylvien rostral* ; 4 : *Gyrus sylvien rostral* ; 5 *Gyrus olfactif lateral*.

Les structures de la substance blanche (légendes de droite) comprennent des **commissures** du télencéphale (*corps calleux et fornix*) ; la **substance blanche sous-corticale** télencéphalique (*centre semi-ovale*) ; la **capsule interne**, qui relie le télencéphale au tronc cérébral, et le *nerf optique*, qui appartient au diencephale.

Le télencéphale est parcouru en profondeur par les **ventricules latéraux** (étoile rouge).

4.1.2. Le tronc cérébral

Le tronc cérébral constitue la partie tubulaire de l'encéphale, en continuité avec la moelle spinale. Il est composé du **diencéphale**, du **mésencéphale**, du **pont** (partie ventrale du **métencéphale**) et du **myélocéphale** (ou moelle allongée). Il est connecté au cerveau (**télocéphale**) par la capsule interne et les pédoncules cérébraux ; et au cervelet par trois paires de pédoncules cérébelleux.

– Conformation externe :

Le tronc cérébral porte le départ de onze des douze paires de nerfs crâniens (la paire I, ou nerfs olfactifs, fait exception et prend origine dans le télencéphale).

Les figures 18 et 19 présentent les vues ventrale et dorsale du tronc cérébral. De façon volontaire, seules les structures concernant le tronc cérébral sont légendées.

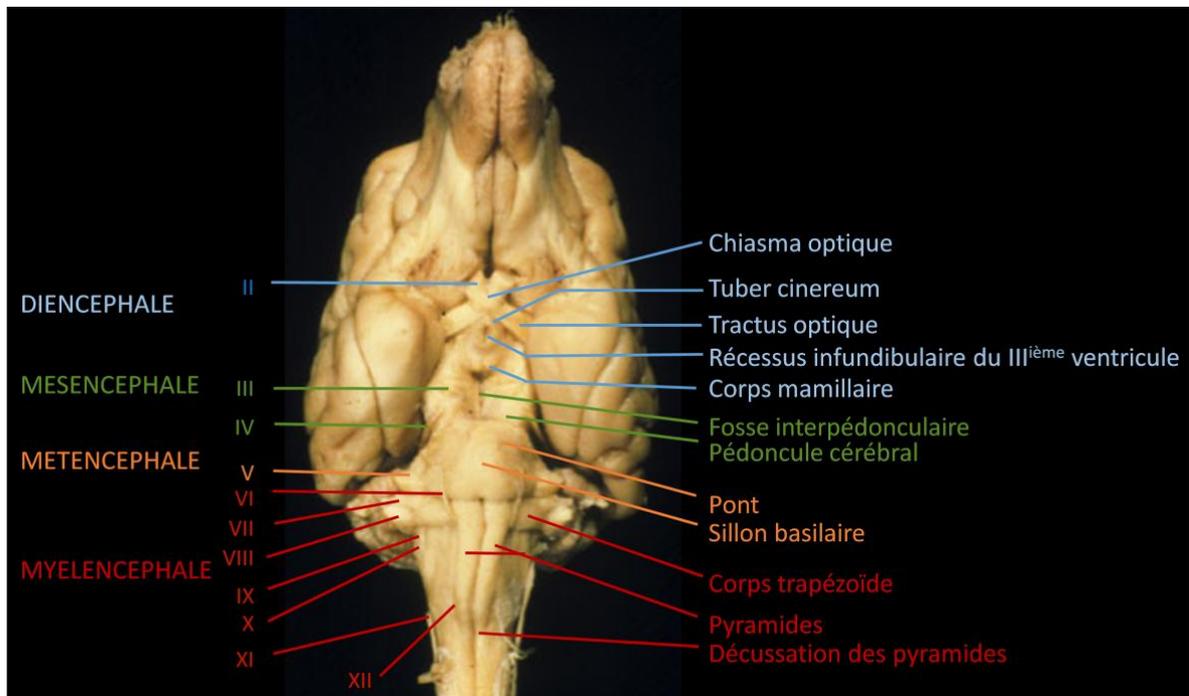
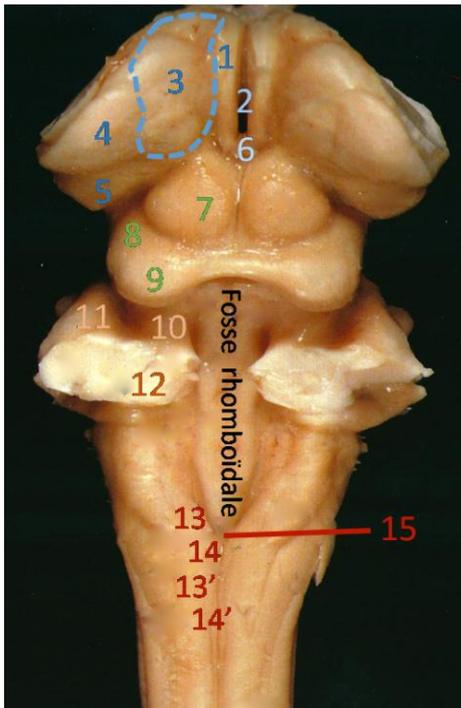


Figure 18 : Vue ventrale d'un encéphale de Chien

Montrant l'émergence des nerfs crâniens de II à XII (à gauche de l'image) et les principales structures du tronc cérébral (à droite de l'image).

Illustration réalisée à partir d'une photographie fournie par l'unité pédagogique d'Anatomie de l'ENVT (Jean Sautet).

Nerfs : II : optique, III : oculomoteur, IV : trochléaire, V : trijumeau, VI : abducteur, VII : intermédiaire-facial, VIII : vestibulo-cochléaire, IX : glosso-pharyngien, X : vague, XI : accessoire, XII : hypoglosse.



Diencéphale

- 1 : Habénula
- 2 : Extrémité rostrale du III^{ème} ventricule (ouverte)
- 3 : Thalamus
- 4 : Corps géniculé latéral
- 5 : Corps géniculé médial
- 6 : Glande pinéale

Mésencéphale

- 7 : Collicule rostral
- 8 : Bras du collicule caudal
- 9 : Collicule caudal

Métencéphale

- 10 : Pédoncule cérébelleux rostral
- 11 : Pédoncule cérébelleux moyen
- 12 : Pédoncule cérébelleux caudal

Myélocéphale

- 13 : Tubercule des noyaux cunéiformes
- 13' : Faisceau cunéiforme
- 14 : Tubercule du noyau gracile
- 14' : Faisceau gracile
- 15 : Obex

Figure 19 : Vue dorsale d'un tronc cérébral de Chien après retrait du cerveau et du cervelet

Illustration réalisée à partir d'une photographie fournie par l'unité pédagogique d'Anatomie de l'ENVT (Jean Sautet).

i. LE DIENCEPHALE :

Le diencéphale est la partie rostrale du tronc cérébral, il porte la capsule interne, lame de fibres le rattachant au cerveau. Il est composé de cinq parties : le thalamus, le métathalamus, l'hypothalamus, l'épithalamus et le subthalamus. Le nerf II (nerf optique) appartient au diencéphale. Le **thalamus** reçoit de nombreuses afférences sensibles et possède de nombreux liens avec le cortex cérébral. Il est composé de plusieurs noyaux (cf. **Figure 20**). Les thalami droit et gauche forment sur le plan médian une dépression dans laquelle loge l'**épithalamus** composé de l'**habénula** rostralement et de la glande pinéale (ou épiphyse) caudalement. Le **métathalamus** est composé des corps géniculés latéraux et médiaux. Les corps médiaux sont petits, ils reçoivent des afférences auditives en provenance du mésencéphale. Les corps latéraux sont volumineux, ils terminent le tractus optique et sont reliés au mésencéphale pour l'accommodation optique.

– Conformation interne :

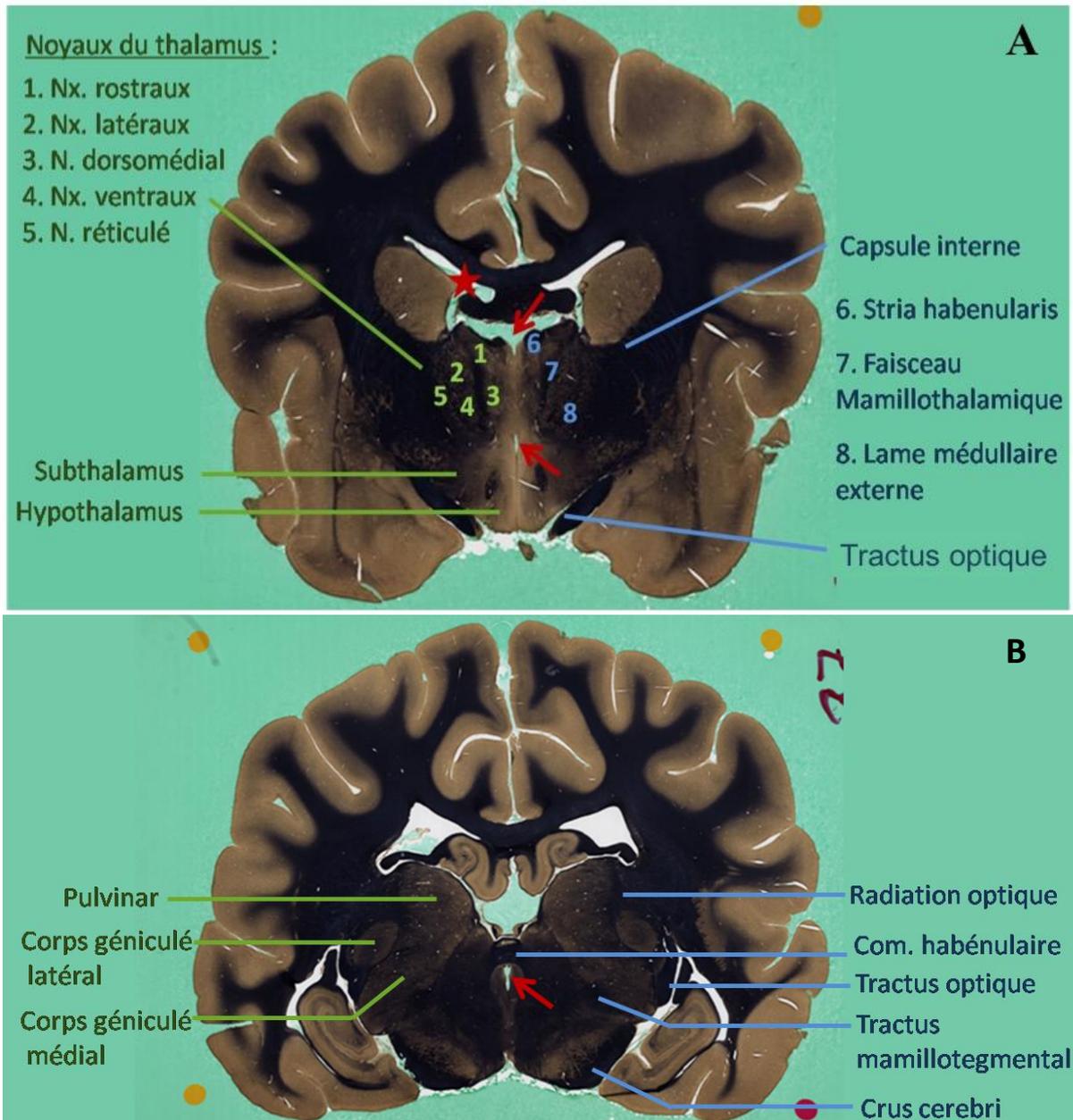


Figure 20 : Deux coupes transversales (A et B) d'un encéphale de Chien réalisées au niveau du diencephale

Illustration réalisée à partir d'une photographie fournie par l'unité pédagogique d'Anatomie de l'ENVT.

Seules les structures appartenant au diencephale sont légendées.

Les structures de la substance grise sont légendées sur la gauche des images. Elles comprennent les noyaux du télencéphale (A : 1-6 et B : pulvinar) ; le subthalamus (A) ; l'hypothalamus (A) et les corps géniculés du métathalamus (B).

Les structures de la substance blanche sont légendées à droite. Le troisième ventricule est signalé par la flèche rouge.

ii. LE MESENCEPHALE :

Le mésencéphale est constitué d'une partie dorsale, le **tectum**, et d'une partie ventrale, qui semble être rattachée directement au cerveau et porte ainsi le nom de **pédoncules cérébraux**. En son centre, il contient l'aqueduc mésencéphalique, qui relie le troisième ventricule au quatrième ventricule. La zone autour de l'aqueduc a une fonction analgésique. Ventralement, le **crus cerebri** contient des fibres longitudinales qui relient le cerveau aux autres étages du névraxe. Du crus cerebri émerge le **nerf III (oculomoteur)** dont les noyaux d'origine (ainsi que celui du nerf IV) sont situés au sein des pédoncules. Les structures du tectum correspondent à deux paires de collicules, avec pour chacune une commissure reliant son homologue controlatéral. Les **collicules caudaux**, volumineux, permettent l'accommodation acoustique et se projettent dans les corps géniculés médiaux du diencephale par les bras des collicules caudaux. Les **collicules rostraux** permettent l'accommodation optique.

– Conformation interne :

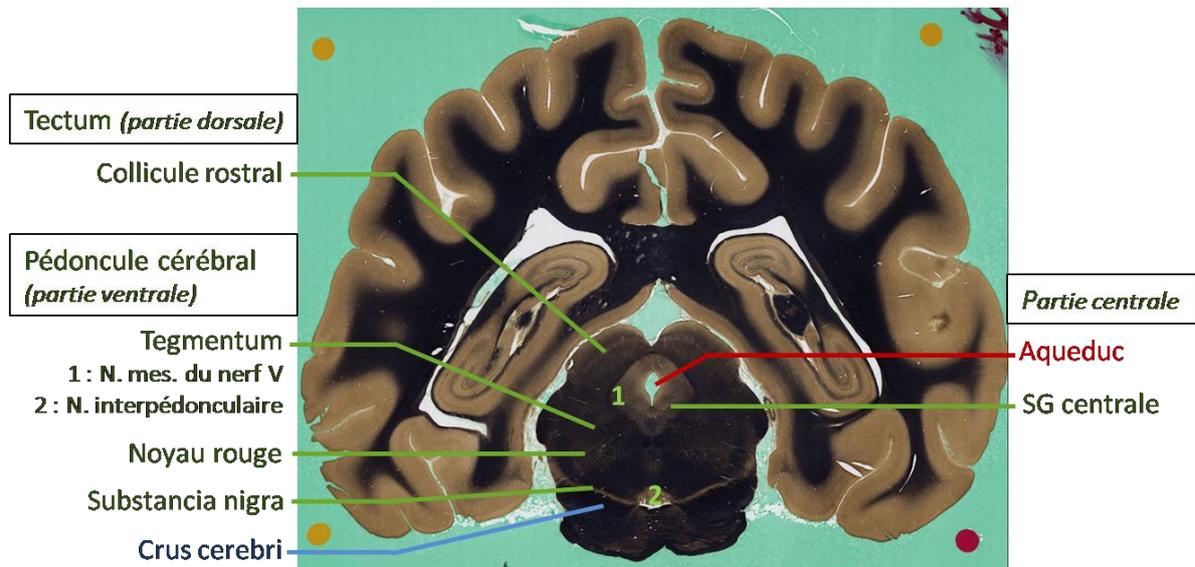


Figure 21 : Coupe transversale d'un encéphale de Chien au niveau du collicule rostral (mésencéphale)

Illustration réalisée à partir d'une photographie fournie par l'unité pédagogique d'Anatomie de l'ENVT.

Seules les structures appartenant au mésencéphale sont légendées : substance grise en vert ; substance blanche en bleu, système ventriculaire en rouge. A gauche de l'image sont légendées les structures du tectum et des pédoncules cérébraux, à droite de l'image apparaît l'aqueduc mésencéphalique avec la substance grise (SG) centrale.

1 : Noyau mésencéphalique du nerf trijumeau ; 2 : Noyau interpédonculaire.

iii. LE METENCEPHALE VENTRAL :

Le métencéphale ventral correspond au pont. Il porte l'émergence du nerf V (nerf trijumeau) et intervient dans la coordination motrice (lien cerveau – cervelet). Les fibres pontiques se poursuivent dorsalement par les **pédoncules cérébelleux moyens**. Ces derniers sont accompagnés de deux autres paires de pédoncules cérébelleux : les **pédoncules cérébelleux rostraux**, qui unissent le mésencéphale au cervelet, et les **pédoncules cérébelleux caudaux** qui unissent le myélocéphale et la moelle spinale au cervelet.

– Conformation interne :

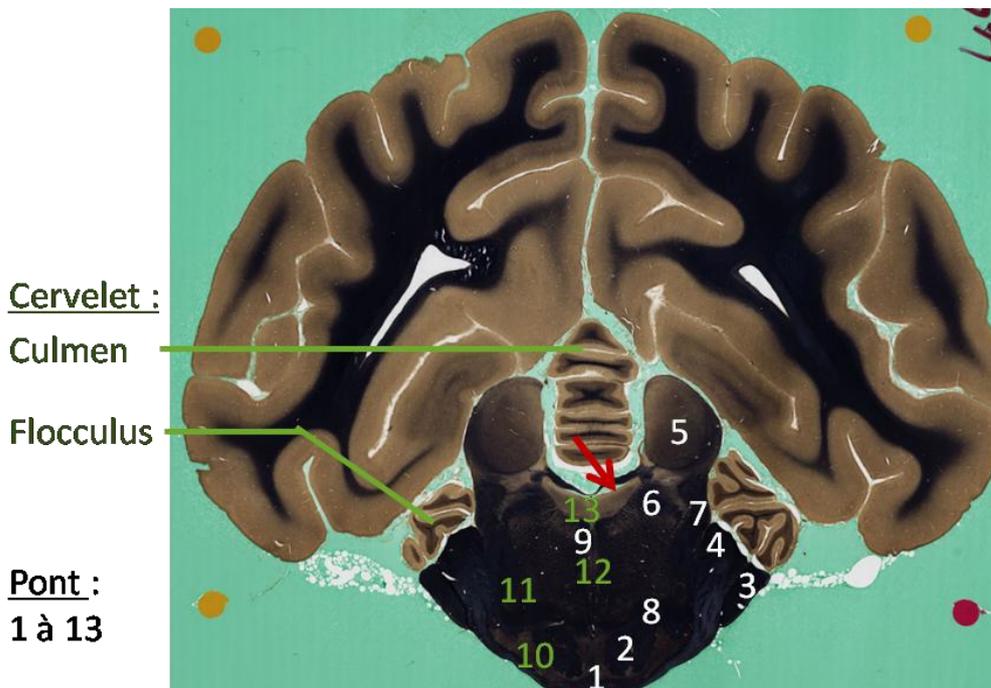


Figure 22 : Coupe transversale d'un encéphale de Chien au niveau métencéphale

Illustration réalisée à partir d'une photographie fournie par l'unité pédagogique d'Anatomie de l'ENVT.

Seules les structures appartenant au métencéphale (pont et cervelet) sont légendées : substance grise en vert ; substance blanche en blanc, quatrième ventricule par la flèche rouge.

La partie ventrale est constituée par une épaisse couche de substance blanche (1 : fibres transverses du pont et 2 : tractus pyramidal et corticopontique) parcourue par de la substance grise (10 : noyaux du pont). Le nerf trijumeau (3) émerge de la partie ventrale.

La partie dorsale (tegmentum) est constituée :

- par des noyaux de substance grise : 11 : noyau sensitif pontin du V ; 12 : noyaux du raphé ; 13 : locus ceruleus)
- par de la substance blanche, constituée par les pédoncules cérébelleux (4 : rostraux ; 5 : moyens) et des voies de conduction (6 : tractus mésencéphalique du nerf trijumeau ; 7 : lemnisque latéral ; 8 : lemnisque médial ; 9 : faisceau longitudinal médial).

iv. LE MYELENCEPHALE :

Le myélelncéphale, ou moelle allongée, est en continuité directe avec la moelle spinale et porte le départ des nerfs crâniens VI à XII. La face ventrale porte **les pyramides**, situées de part et d'autre de la **fissure médiane**. Cette structure appartient à la voie de la motricité volontaire. La face dorsale porte les **faisceaux graciles et cunéiformes** qui se terminent rostralement par un tubercule propre : le **tubercule du noyau gracile** et le **tubercule des noyaux cunéiformes** puis se poursuivent communément par le pédoncule cérébelleux caudal. Ils sont impliqués dans la voie lemniscale (sensibilité tactile fine et proprioceptive consciente).



Figure 23 : Coupe transversale d'un encéphale de Chien au niveau myélelncéphale

Illustration réalisée à partir d'une photographie fournie par l'unité pédagogique d'Anatomie de l'ENVT.

Seules les structures appartenant au myélelncéphale et au cervelet sont légendées : substance grise en vert ; substance blanche en blanc, quatrième ventricule par l'étoile rouge.

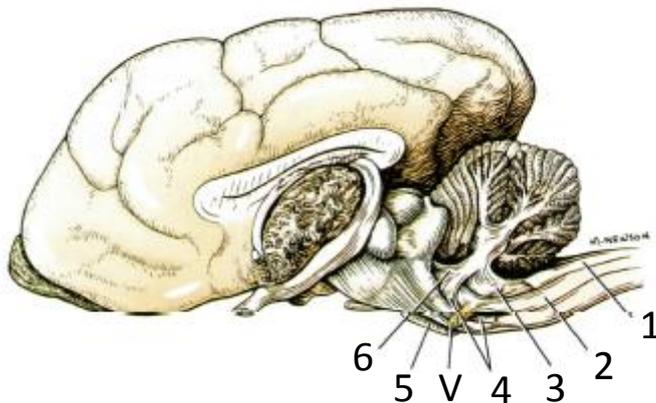
La substance grise du myélelncéphale est essentiellement constituée par les noyaux des nerfs crâniens (3 : noyaux vestibulaires VIII ; 4 : noyau parasympathique du nerf glosso-pharyngien IX ; noyau du tractus spinal du nerf trijumeau V ; noyau ambigu, commun pour les nerfs IX, X, XI).

La substance blanche du myélelncéphale est composée de voies de conduction (1 : tractus rubrospinal ; 2 : faisceau longitudinal dorsal ; pyramides) et du pédoncule cérébelleux caudal.

4.1.3. Le cervelet

Le cervelet constitue la partie dorsale du métencéphale. Il est rattaché au tronc cérébral par les pédoncules cérébelleux. Le cervelet se comporte comme un petit cerveau branché en dérivation sur toutes les voies ascendantes et descendantes. Il intervient dans le contrôle de la motricité somatique, le maintien de l'équilibre, la régulation du tonus musculaire et la coordination des mouvements.

- Conformation externe :



- 1 : Faisceau cunéiforme
- 2 : Tractus spinal du nerf trijumeau
- 3 : Pédoncule cérébelleux caudal
- 4 : Tractus spino-cérébelleux ventral
- 5 : Fibres transverses du pont
(pédoncule cérébelleux moyen coupé)
- 6 : Pédoncule cérébelleux rostral
- V : nerf trijumeau

Figure 24 : Aspect latéral d'un encéphale de Chien avec l'hémisphère cérébral gauche enlevé

Le tronc cérébral et le cervelet sont disséqués pour montrer les pédoncules cérébelleux rostral et caudal droits.

Illustration réalisée à partir d'une image issue de « Evans E 2013 ».

- Conformation interne : (Figure 22 et Figure 23)

Le cervelet est constitué de trois lobes (rostral, caudal et flocculo-nodulaire) séparés en lobules par des fissures transversales. La partie centrale du cervelet est appelée le culmen et les parties latérales sont les hémisphères cérébelleux. La structure plissée déjà décrite du cortex (cf. 3.1.2 Organisation corticale) est observable sur les coupes : le cortex de substance grise est soutenu par la substance blanche centrale (« arbre de vie ») avec, en profondeur, les trois noyaux du cervelet, par lesquels passent la plupart des fibres efférentes du cervelet.

4.2. Les supports métaboliques et protecteurs

L'encéphale est baigné par le liquide cébrospinal (LCS) qui circule à l'intérieur des ventricules et dans la cavité sous-arachnoïdienne (cf. *infra*). Il est enveloppé par les méninges et protégé par la boîte crânienne.

4.2.1. Le système ventriculaire

Les ventricules sont issus de l'élargissement de la lumière du canal neural lors de la formation des vésicules embryologiques (**Figure 2**). Ils sont au nombre de quatre : deux **ventricules latéraux** symétriques dans le télencéphale communiquant chacun avec le troisième ventricule par un **foramen interventriculaire**. Le **troisième ventricule** appartient au diencéphale et se présente en anneau autour de l'adhésion interthalamique. Il n'y a pas de ventricule *sensu stricto* dans le mésencéphale mais un canal étroit, l'**aqueduc mésencéphalique**, qui relie le troisième au **quatrième ventricule**, présent à la fois dans le métencéphale et le myélocéphale. Il s'ouvre sur l'espace sous-arachnoïdien par les récessus et ouvertures latéraux et se poursuit par le canal central qui parcourt la moelle spinale. Les ventricules sont bordés par un épithélium composé d'épendymocytes et sont remplis de LCS. Ce liquide est produit par ultrafiltration du sang au travers des plexus choroïdes, structures faisant protrusion au sein des cavités ventriculaires et résultant de l'accolement et de l'invagination de la strate épendymaire à la méninge la plus profonde (pie-mère), richement vascularisée.

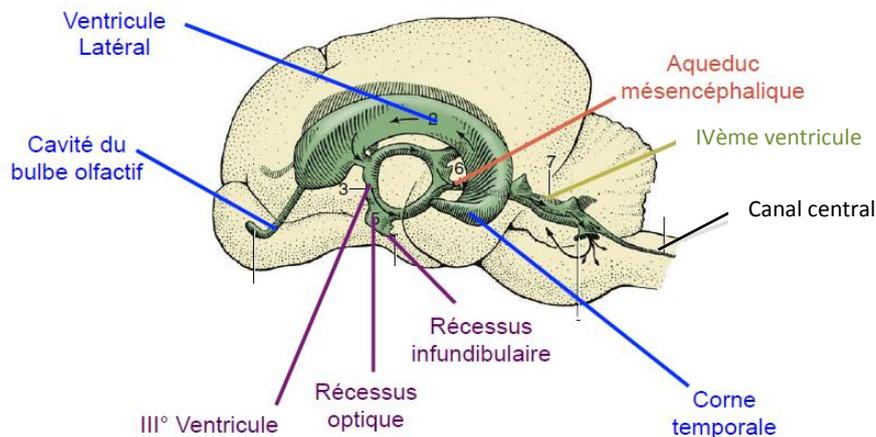


Figure 25 : Vue latérale schématique du système ventriculaire du Chien

Illustration réalisée à partir de « Dyce 1987 »

4.2.2. Les méninges

Les méninges, les trois tuniques protectrices du névraxe, sont constituées de tissu conjonctif. Les plus profondes correspondent à la **pie-mère** et à l'**arachnoïde**. La pie-mère recouvre la surface de l'encéphale auquel elle est adhérente. L'arachnoïde est reliée à la pie-mère par des trabécules qui maintiennent un espace entre ces deux couches : la **cavité sous-arachnoïdienne**, remplie de LCS.

La couche la plus superficielle, épaisse, est la **dure-mère**. C'est une couche fibreuse, constituée de deux feuillets : le feuillet externe est fusionné à la boîte crânienne dont il constitue le périoste et le feuillet interne est la couche méningée. Ces feuillets s'écartent en certains points pour former les sinus veineux dure-mériens, compartiments permettant le retour du LCS au secteur sanguin.

4.2.3. Les os du crâne

L'encéphale se situe dans une boîte osseuse protectrice, le crâne. Les os du crâne appartiennent à la tête osseuse, tout comme les os de la face. Les os du crâne sont au nombre de six : l'os **occipital**, l'os **sphénoïde** (formé par l'os basisphénoïde et l'os presphénoïde), l'os **temporal**, l'os **pariétal**, l'os **frontal**, l'os **ethmoïde** (Figure 26).

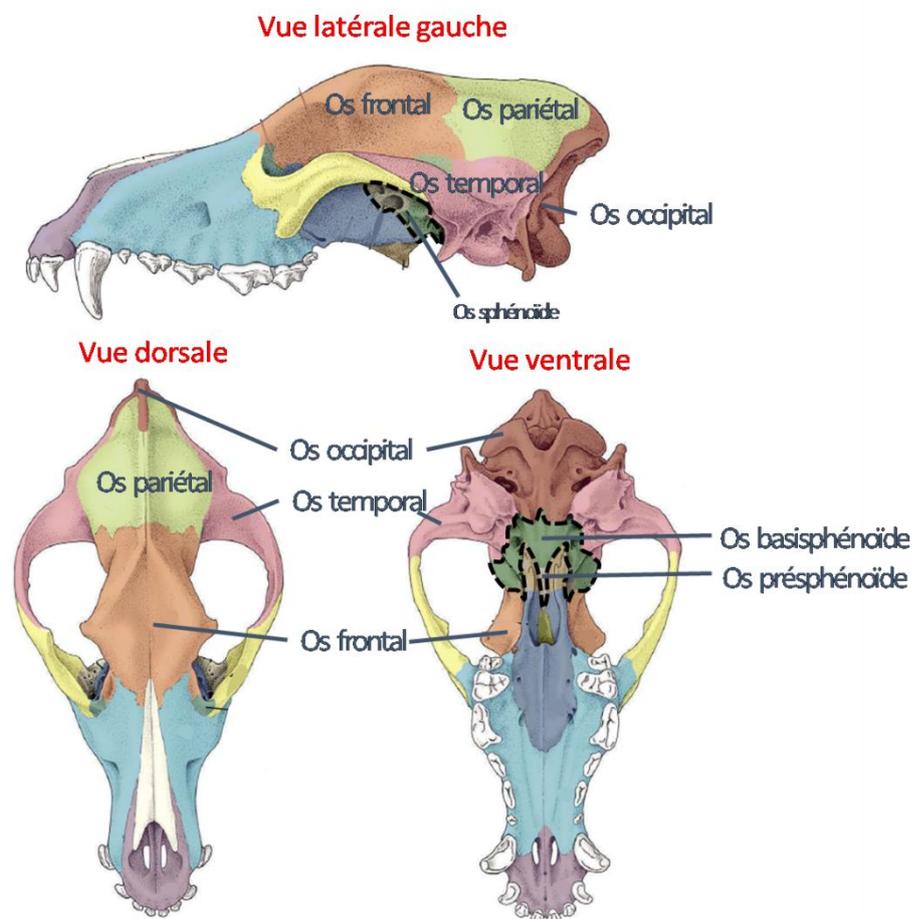


Figure 26 : Vues latérale gauche, dorsale et ventrale d'une tête osseuse de Chien.

Illustration réalisée à partir d'une image issue de : « Dyce 1987 »

Les os de la face ne sont pas légendés.

Synthèse :

L'organisation anatomo-fonctionnelle complexe de l'encéphale résulte de :

- la différenciation de l'épithélium du tube neural embryonnaire en un nombre limité de cellules hautement spécialisées (neurones, astrocytes, oligodendrocytes, épendymocytes, cellules des plexus choroïdes, microgliocytes) ;
- leur organisation en deux tissus (substance blanche et substance grise) ;
- la disposition précise des zones de substance grise connectées entre elles au moyen de fibres de la substance blanche, formant des réseaux hiérarchisés d'information, contrôlant toutes les fonctions de l'organisme et ses relations au milieu extérieur (motricité somatique, motricité viscérale, extéroception, proprioception, intéroception).

L'encéphale est nourri et protégé par le liquide cérébro-spinal dans lequel il baigne, par trois couches de méninges et repose au sein de la boîte crânienne.

En cas de lésion de l'encéphale, l'imagerie médicale, apporte des informations essentielles mais ne peut se passer des informations apportées par les examens complémentaires microscopiques. Ces derniers sont compliqués par la difficulté d'accès de l'encéphale et son organisation complexe et spécifique. Quelles sont les données de littérature concernant les examens histologiques et cytologiques cérébraux chez le Chien ? Quel est l'aspect histologique et cytologique du tissu nerveux normal ? Nous essaierons de répondre à ces questions dans la partie suivante.

II. Examens histologiques et cytologiques cérébraux chez le Chien

1. Indications

Quand une lésion intracrânienne est suspectée, le recours à des outils d'imagerie médicale sophistiqués (tomodensitométrie - TDM - et Imagerie par Résonance Magnétique -IRM) permet de localiser la masse, d'obtenir sa taille et ses relations avec les tissus avoisinants.

Le diagnostic différentiel comprend alors les lésions vasculaires, infectieuses, inflammatoires et les lésions tumorales primitives (bénignes, malignes) et métastatiques. Une fois les causes infectieuses et vasculaires écartées, les données cliniques et d'imagerie ne permettent pas de distinguer une lésion inflammatoire d'une lésion tumorale.

Le diagnostic définitif nécessite alors un prélèvement chirurgical et examen histologique au laboratoire. L'examen cytologique est également très intéressant car il permet une préparation, lecture et première interprétation pendant le temps opératoire. Cette pratique est largement répandue en médecine humaine et constitue une perspective intéressante en médecine canine (Long et al. 2002; Vernau et al. 2001). Elle permet d'adapter la prise en charge chirurgicale du patient, d'obtenir des informations essentielles pour la mise en place d'une thérapie intra tumorale et fournit des indications pronostiques.

2. Techniques chirurgicales d'abord

2.1. Craniotomie

La craniotomie est la technique d'abord traditionnelle. Littéralement, il s'agit de l'acte chirurgical consistant à découper un volet osseux dans la voûte crânienne afin d'accéder à l'encéphale. Elle permet l'évaluation histologique d'une tumeur lors d'une résection mais présente une invasivité élevée si l'objectif est uniquement diagnostique.

Le choix de la technique d'abord est déterminé par la localisation et l'extension de la lésion. Une craniotomie latérale (ou rostro-tentoriale) est réalisée en cas de tumeur hémisphérique unilatérale dans la fosse moyenne par exemple, une craniotomie transfrontale permet l'accès aux lésions de la fosse rostrale, une craniectomie suboccipitale (caudo-tentoriale) permet l'accès aux tumeurs localisées dans la fosse caudale (Slatter 1985). Les abords ventraux sont évités au maximum (risque infectieux lors de la traversée des sinus). Globalement, la craniotomie commence par l'incision des plans cutanés et musculaires, qui sont réclinés. Le volet osseux est ensuite découpé, ses frontières ne dépassent pas les limites imposées par les structures anatomiques importantes (en particulier les sinus). Lors du retrait du volet osseux, la dure-mère est préservée afin d'éviter les saignements dus à l'incision des artères méningées (Bojrab 1998). Après la chirurgie, les méninges

sont suturées. Le volet osseux est remis en place (craniotomie) ou non (craniectomie). En particulier, lors d'un abord rostro-temporal, le muscle temporal permet de protéger la fenêtre laissée par une craniectomie.

Les risques post-opératoires d'une craniotomie sont dus à la manipulation et résection de tissu nerveux, à de l'œdème, des saignements, une infection. Ceci peut entraîner une hernie cérébrale, des convulsions, des troubles neurologiques, cardiovasculaires ou respiratoires.

2.2. Trépanation

Des techniques ont été développées pour rendre l'étape diagnostique moins invasive : l'abord de l'encéphale par craniotomie (section de un ou plusieurs os du crâne) a été remplacé par un abord par trépanation (réalisation d'un trou dans la boîte crânienne) et des techniques d'accès aux lésions profondes qui préservent au maximum le tissu cérébral sain ont été étudiées. Le prélèvement de la masse, lésion focale dans l'encéphale, nécessite alors un repérage préalable. Des techniques par guidage échographique et par stéréotaxie sont ainsi apparues, d'abord en médecine humaine, puis ont fait l'objet d'études en médecine vétérinaire également.

2.2.1. Prélèvements échoguidés

L'utilisation de l'échographie dans les procédures concernant l'encéphale permet de réaliser des biopsies, d'assister la résection chirurgicale d'une lésion cérébrale, de drainer des abcès, kystes et hématomes cérébraux. Il s'agit d'un examen dynamique, qui présente donc l'avantage de visualiser le trajet du prélèvement et sa bonne réalisation, de choisir le meilleur site dans la masse pour la réalisation de la biopsie, d'apprécier la vascularisation d'une lésion, de détecter immédiatement un saignement, de délimiter les bords de la masse lors de résection, de vérifier le drainage complet de l'abcès ou du kyste. Sur la base des résultats conclusifs obtenus en médecine humaine, les prélèvements échoguidés ont également été étudiés en médecine canine.

L'accès pour la réalisation d'une échographie de l'encéphale peut être la craniotomie ou la trépanation (Berger 1986, médecine humaine). Lors de prélèvements, ceux-ci peuvent être réalisés avec ou sans guide placé sur la sonde. Un appareillage de fixation peut également être utilisé pour stabiliser la sonde pendant le prélèvement : ce fut le cas dans l'étude de Thomas et al. 1993. Sur dix chiens concernés par cette étude, la cible a été correctement atteinte neuf fois (soit une réussite de 90 %).

En médecine canine, aucune étude n'a permis de comparer la biopsie échoguidée à la biopsie stéréotaxique assistée par TDM (cf. *infra*, Moissonnier et al. 2002). L'avantage incontestable de l'échographie tient dans la visualisation instantanée des éventuelles lésions hémorragiques, qui sont la principale complication post-opératoire des biopsies cérébrales. Parmi les limites de l'utilisation du guidage échographique, on peut citer l'acquisition des images en deux dimensions seulement. L'apparition d'artéfacts échographiques produits par l'introduction d'instruments est soit considérée comme un inconvénient lorsqu'il s'agit de résection tumorale (Unsgaard et al. 2002, médecine

humaine) ; soit comme un avantage dans le repérage de l'instrument sur l'image échographique lors de la réalisation d'une biopsie (Thomas et al. 1993, médecine canine).

2.2.2. *Biopsie stéréotaxique*

Littéralement, « stéréotaxie » signifie « ordonnancement dans l'espace ». Dans le cas des biopsies cérébrales, il s'agit de repérer une cible dans le cerveau de façon précise pour pouvoir y introduire les instruments de biopsie. Les techniques stéréotaxiques ont été décrites pour la première fois en médecine humaine en 1947. Elles se sont ensuite développées conjointement au développement des outils d'imagerie médicale sophistiqués. La biopsie stéréotaxique est adaptée au besoin diagnostique car elle présente l'avantage d'être moins invasive que lors d'un abord par craniotomie et d'obtenir l'accès à des lésions inaccessibles autrement. Elle permet le prélèvement d'un tissu avec une grande précision, de réaliser une aspiration d'un abcès ou kyste, ou encore de réaliser une chimiothérapie dirigée.

Dans l'espèce canine, les limites d'utilisation de la biopsie stéréotaxique sont de deux natures. La première est la variabilité de taille et de forme du crâne inhérente à la variabilité intraspécifique du chien. Des atlas de stéréotaxie, fournissant les coordonnées des structures anatomiques de l'encéphale, ne sont alors pas réalisables et un repérage individuel à l'aide de cadre de stéréotaxie modulable est nécessaire. D'autre part, il s'agit d'une technique très couteuse en raison du matériel nécessaire.

Plusieurs systèmes d'adaptation des techniques stéréotaxiques à l'espèce canine sont décrits dans la littérature.

En 1987, un cadre stéréotaxique utilisé chez l'animal de laboratoire a été adapté à l'utilisation du scanner dans l'espèce canine (Coffey, Lunsford 1987). Préalablement, ce dispositif n'était pas radio-compatible et le repérage était effectué par des repères externes et des atlas de stéréotaxie.

En 1999, un cadre stéréotaxique avec guidage tomodensimétrique utilisé en médecine humaine a été adapté à l'espèce canine (Koblik et al. 1999). Le système stéréotaxique Pelorus Mark III a été choisi pour plusieurs raisons. D'une part, le système de fixation au crâne du patient est moins lourd que pour d'autres systèmes dans lesquels le cadre est uniquement adapté à la forme du crâne humain. D'autre part, avec le Pelorus Mark III, les coordonnées sont reportées mécaniquement et non par l'intermédiaire d'un logiciel. Ces deux points permettent un coût du système plus abordable pour une utilisation et une adaptation à l'espèce canine. L'adaptation elle-même est réalisée par une rotation du système de 90° en raison de la différence d'orientation des crânes humains et canins, avec transposition du système de coordonnées. D'autres modifications simples ont aussi été effectuées comme l'ajout d'un anneau ajustable en plastique pour le maintien du crâne. L'étude réalisée sur 50 chiens montre une utilisation possible sur des chiens de taille variable (2 à 47 kg), avec une précision de 3,5 mm +/- 1.6.

Dans le même temps, une équipe de l'École Nationale Vétérinaire de Maison-Alfort a développé un cadre stéréotaxique spécifiquement pour l'espèce canine (Moissonnier et al. 1999). Le prélèvement est réalisé par guidage tomodensimétrique avec une précision de 2.9 mm +/- 1.08. Les étapes de réalisation sont les suivantes : le chien est anesthésié et placé dans le cadre stéréotaxique

pour la réalisation de l'examen tomodensimétrique ; la lecture et l'analyse de l'examen permettent d'établir les coordonnées en trois dimensions de la masse, lesquelles sont reportées sur les différentes unités de localisation du cadre stéréotaxique. Le chien est retiré du dispositif afin de réaliser une simulation du prélèvement. Une stérilisation du matériel est réalisée puis le chien est repositionné pour la réalisation chirurgicale du prélèvement. Sur 23 chiens concernés par l'étude, 22 prélèvements ont été réalisés de manière correcte tandis qu'une biopsie a manqué la cible (soit une réussite de 95 %).

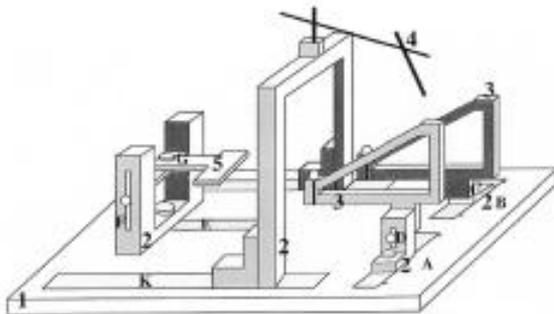


Figure 27 : Cadre stéréotaxique élaboré pour l'espèce canine

Illustration d'après « Moissonnier et al. 2002 »

A : Diagramme du cadre stéréotaxique

1: support, 2: cadre, 3: unité de localisation, 4: support du matériel de prélèvement, 5 : repositionneuse, A-H = repères pour la graduation centimétrique

B : Réalisation de l'examen tomodensimétrique d'un chien placé dans l'appareil

Plus récemment, une étude clinique réalisée sur 26 chiens montre un taux de réussite élevé (Rossmeisl et al. 2015): 94.6 % des biopsies ont permis de donner un diagnostic histologique. Certaines biopsies n'ont pas pu amener à une conclusion car les prélèvements avaient été réalisés dans une zone de nécrose, de gliose ou dans du tissu nerveux sain. Cette étude faisait intervenir selon les cas l'un ou l'autre des deux systèmes stéréotaxiques disponibles (Dynatech Headframe ou Virginia Tech Custom Headframe).

La biopsie stéréotaxique par guidage tomodensimétrique permet de réduire les complications mais elles ne sont pas inexistantes (Moissonnier et al. 2002 : 27%, Rossmeisl et al. 2015 : 27 %). Sont rapportés : coma, troubles du rythme cardiaque, convulsions, augmentation des signes neurologiques déjà présents avant l'intervention, saignements abondants per-opératoires.

3. Examen histologique

3.1. Prélèvement et préparation

– Prélèvement :

Deux types de prélèvements sont possibles pour l'examen histologique.

- Par biopsie, le spécimen est de petite taille. Le prélèvement est réalisé avec une aiguille à biopsie de 14 à 16 gauges (G). Ceci est intéressant lors d'une étape diagnostique préalable à l'étape curative.
- Par exérèse de la masse (chirurgicale ou lors de l'autopsie), la représentation est complète, permettant d'obtenir une plus grande certitude d'obtenir un diagnostic définitif.

– Fixation :

Le prélèvement est tout d'abord fixé par une solution qui fixe ou précipite les protéines. Une solution de formaldéhyde est l'usage le plus courant.

– Coupe :

Une fois fixé, le tissu est placé dans un milieu dur afin de pouvoir en réaliser des coupes fines (5 à 6 μm selon les études), avec un outil appelé microtome. Le milieu le plus fréquemment utilisé est constitué par de la paraffine.

– Coloration :

Les différents colorants dans lesquels les coupes peuvent ensuite être plongées imprègnent les différentes structures des cellules, permettant de les distinguer. Une coloration classique à l'hémalum-éosine (HE) peut être utilisée. D'autres colorations sont utiles en fonction des situations pour mettre en évidence des détails et composants cellulaires propres aux différentes cellules nerveuses. Elles sont évoquées dans un paragraphe suivant.

3.2. Aspect histologique du tissu nerveux normal à l'hémalum-éosine

La coloration la plus utilisée est la coloration à l'hémalum-éosine. Elle associe deux colorants :

- L'hémalum est un colorant qui donne une couleur violette aux structures acides, dites « basophiles ». C'est le cas du noyau, des ribosomes libres et du réticulum endoplasmique granuleux (RER). Dans le noyau, la chromatine (ADN enroulé autour de protéines) se colore différemment selon son état : l'euchromatine, qui correspond à l'ADN en cours de transcription,

est peu colorée tandis que l'hétérochromatine, qui correspond aux zones inactives, est très colorée. Ainsi, la coloration du noyau varie en fonction du type cellulaire et de son activité.

- L'éosine est un colorant acide qui donne une couleur rose aux structures basiques, dites « éosinophiles ». C'est le cas des mitochondries et des grains de neurosécrétion (Stevens 1993b).

3.2.1. Aspect histologique dans la substance grise

La substance grise est constituée de corps cellulaires neuronaux, d'astrocytes protoplasmiques, d'oligodendrocytes satellites et de quelques microglies (cf. I.3.1. Substance grise).

- Sur les préparations colorées à l'hémalum-éosine, les expansions cytoplasmiques des cellules du SNC (neurones et cellules gliales) ne sont pas observables. Le fond de la préparation apparaît alors comme une substance fondamentale fibrillaire éosinophile, le **neuropile** (Young et al. 2010).
- Les corps cellulaires neuronaux ont une taille variable selon la région anatomique concernée. Ils présentent un noyau volumineux, basophile, avec de la chromatine dispersée et un nucléole bien visible. Ces deux derniers signes marquent la forte activité nucléaire neuronale. Le cytoplasme est visible, il est également basophile en raison de sa richesse en réticulum endoplasmique, avec un aspect granuleux dû aux corps de Nissl (amas de RER), bien visibles dans les neurones de grande taille mais peu apparents dans les petits neurones. Seul le départ des prolongements cellulaires est visible, les expansions elles-mêmes se perdent dans le neuropile. (**Figure 28A**).
- Les astrocytes protoplasmiques apparaissent uniquement sous la forme d'un noyau ovale, à la chromatine pâle et finement granulaire, avec un nucléole de petite taille ou non visible. Le cytoplasme et les expansions cytoplasmiques n'apparaissent pas sur une préparation à l'hémalum éosine. Les astrocytes protoplasmiques sont souvent situés à proximité des corps cellulaires neuronaux, et sont également dispersés dans la substance grise (**Figure 28B**).
- Les oligodendrocytes satellites apparaissent par leur petit noyau sphérique sombre (chromatine condensée), souvent entouré d'un halo blanc en raison de l'absence de coloration de leur cytoplasme (fixation par immersion). Les expansions cytoplasmiques n'apparaissent pas. Les oligodendrocytes de la substance grise sont situés autour des corps cellulaires neuronaux ou sont dispersés (**Figure 28B et C**).
- Les microglies apparaissent au repos sous la forme d'un petit noyau cunéiforme (coin, virgule), le cytoplasme n'étant pas apparent. En situation saine, les microglies sont répartis de façon éparse dans la substance grise (**Figure 28D**).

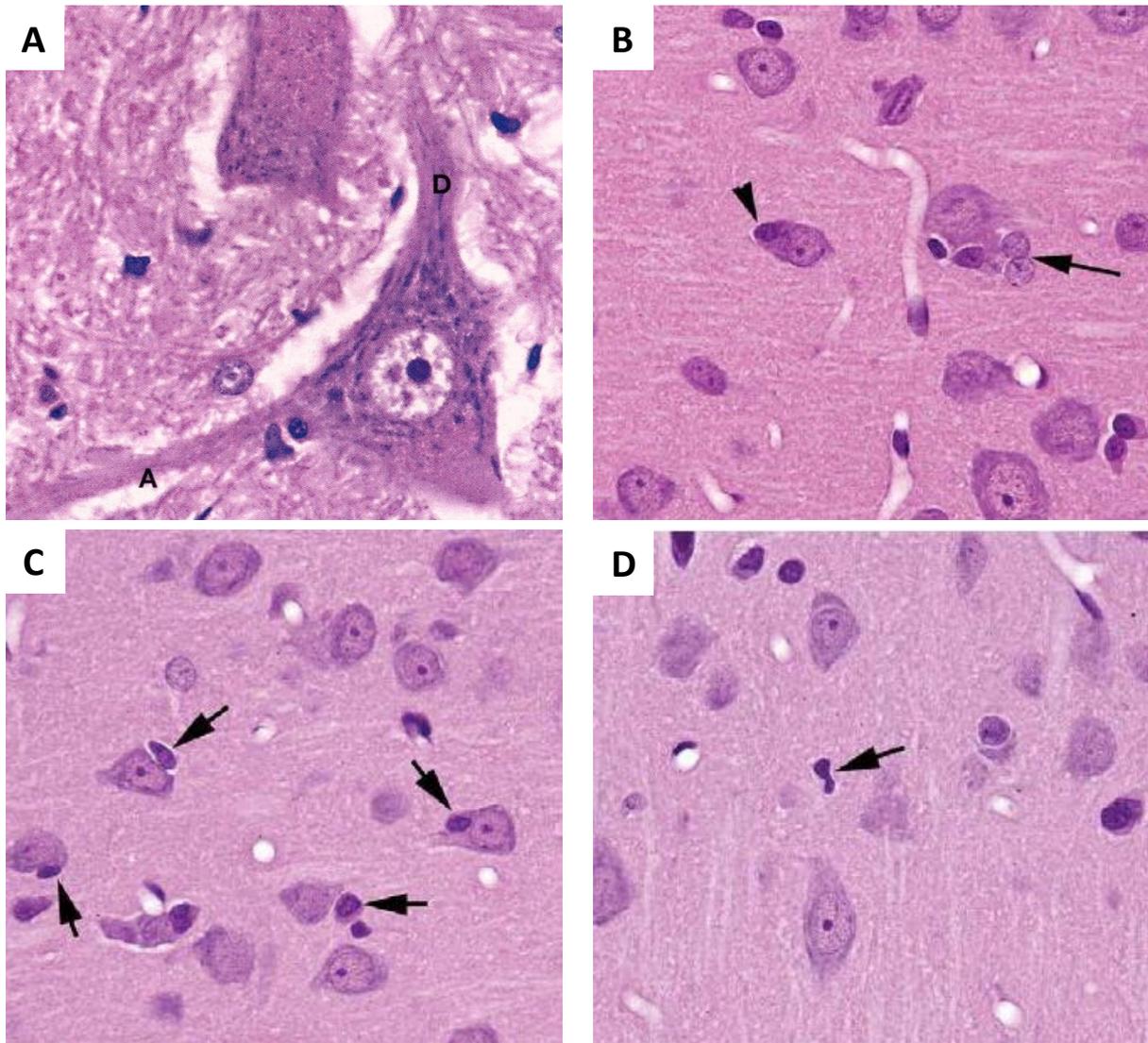


Figure 28 : Aspect histologique à l'hémalun-éosine de la substance grise

A : HE, X 1200, illustration issue de « Young et al. 2010 ».

B-D : HE, x554, illustrations issues de « Garman 2011 ».

A: Aspect histologique d'un neurone de taille intermédiaire à grande : le noyau présente un nucléole bien visible et de la chromatine décondensée, le cytoplasme est riche en granulations basophiles (corps de Nissl). Le départ des expansions cytoplasmiques est visible (D : dendrite ; A : axone).

B : Les astrocytes (flèche) apparaissent sous la forme d'un noyau nu finement granulaire avec un nucléole indistinct. Les oligodendrocytes (tête de flèche) ont un petit noyau rond et sombre. Le neuropile apparaît comme un fond éosinophile qui contient les expansions cellulaires des neurones et des cellules gliales.

C : Aspect histologique des oligodendrocytes satellites, cortex cérébral de rat : les flèches indiquent quatre oligodendrocytes. Ces cellules ont un petit noyau rond et sombre.

D : Dans le neuropile coloré en hémalun-éosine, les cellules microgliales sont observées en petit nombre (flèche noire) en conditions physiologiques.

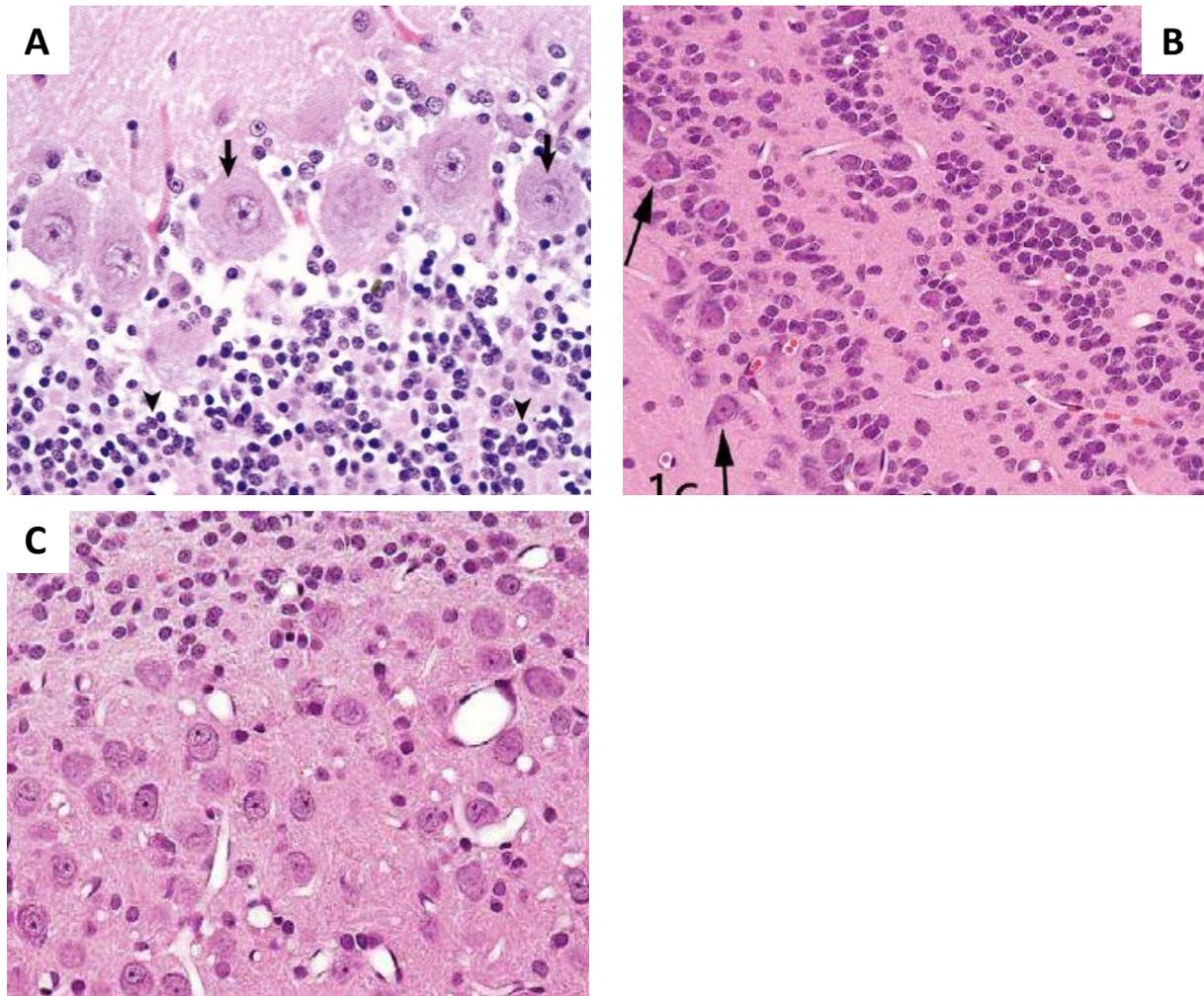


Figure 29 : Variation de la morphologie neuronale en fonction du territoire neuroanatomique prélevé

A : HE, illustration issue de « Zachary 2012 ».

B et C : HE, x277, illustrations issues de « Garman 2011 ».

La morphologie des neurones, en particulier leur taille, varie dans le tissu cérébral. Ceci permet la reconnaissance du territoire neuroanatomique observé lors de l'examen histologique.

Le cortex cérébelleux (A) présente à la fois des neurones de très grande taille, les cellules de Purkinje (flèche), avec toutes les caractéristiques précitées, ainsi que des neurones de très petites tailles dans la couche granulaire, avec un aspect de lymphocytes (taille, noyau rond sombre, peu de cytoplasme).

De même, dans le bulbe olfactif (B), une couche fine de neurones de grande taille (cellule mitrale, flèche) voisine une couche épaisse de neurones granulaires.

A l'inverse, le noyau cochléaire (C) contient une couche importante de neurones de grande taille coiffée par une couche de petits neurones.

3.2.2. Aspect histologique dans la substance blanche

La substance blanche est constituée de faisceaux d'axones, d'oligodendrocytes interfasciculaires, d'astrocytes fibreux et de microgliaocytes (cf. I.3.2. Substance blanche). Les faisceaux d'axones apparaissent comme des lignes ou des disques éosinophiles selon leur coupe, les plus gros sont entourés par un manchon blanc car les lipides de leur gaine de myéline sont dissous par le procédé de préparation. Les cellules gliales apparaissent toujours uniquement par leur noyau, les expansions cytoplasmiques ne sont pas visibles à l'hémalum-éosine. Les oligodendrocytes interfasciculaires sont les cellules gliales les plus abondantes de la substance blanche et sont situés alignés entre les fibres nerveuses.

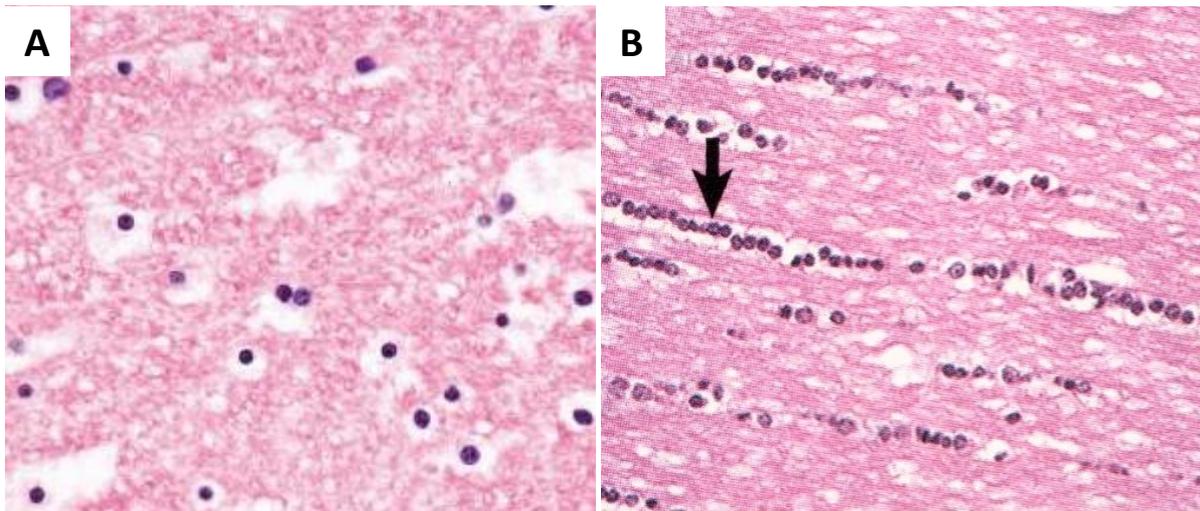


Figure 30 : Aspect histologique à l'hémalum-éosine de la substance blanche

A : Aspect histologique dans la substance blanche, encéphale de chien : les oligodendrocytes interfasciculaires apparaissent souvent avec un halo périnucléaire, produisant un aspect typique qualifié d' « œuf au plat », lorsque le prélèvement tissulaire a été fixé par immersion -HE, x 554, *Illustration issue de « Garman 2011 ».*

B : Aspect histologique dans la substance blanche : les oligodendrocytes interfasciculaires sont alignés entre les fibres nerveuses. Ce sont les cellules gliales les plus nombreuses de la substance blanche – HE, *Illustration issue de « Zachary 2012 ».*

3.3. Autres colorations et techniques de préparation

La coloration à l'hémalun-éosine permet la mise en évidence des noyaux, des corps cellulaires et des constituants cytoplasmiques mais présente des limites dans l'étude histologique du système nerveux central. En particulier, elle ne permet pas d'observer les expansions cytoplasmiques cellulaires : les dendrites et axones des neurones ne peuvent être facilement étudiés et la reconnaissance des cellules gliales est parfois difficile. D'autres types de coloration et techniques de préparation existent.

- Certaines colorations permettent la mise en évidence d'un élément spécifique de la cellule. Par exemple, la coloration de Nissl, également appelée coloration au Crésyl violet, met en jeu un colorant basophile qui colore particulièrement en bleu-violet le noyau du neurone et son corps de Nissl (coloration de l'ARN) (Young et al. 2010).
- Les techniques d'imprégnation par des métaux lourds (par exemple à l'or, **Figure 31A**) permettent la mise en évidence des axones et dendrites. Elles ont surtout été utilisées en neuro-anatomie pour la compréhension de la morphologie des neurones (Young et al. 2010).
- Des techniques de mise en évidence de la myéline, dissoute lors des techniques de fixation et de coloration habituelles, existent. C'est le cas par exemple de la coloration par la cyanine monochrome (**Figure 31B**).
- Enfin, les techniques d'immunohistochimie sont très utiles, notamment dans l'étude des maladies du système nerveux central. Elles utilisent des anticorps dirigés contre des protéines spécifiques d'un type cellulaire.
 - Concernant les neurones, plusieurs marqueurs histochimiques existent (Garman 2011). On peut citer la protéine des neurofilaments. Le réseau complexe des expansions cytoplasmiques d'une région du cerveau sera alors observable.
 - Les oligodendrocytes et la myéline sont mis en évidence par l'utilisation d'anticorps dirigés contre des protéines associées à la myéline, par exemple, la protéine basique de la myéline (Garman 2011).
 - La coloration immuno-chimique de la protéine gliale fibrillaire acide (GFAP, **Figure 31C**) permet de mettre en évidence les astrocytes. Il s'agit d'une protéine spécifique des filaments intermédiaires de ces cellules. Elle est très présente dans les astrocytes fibreux, pour lesquels on peut observer des prolongements peu nombreux et rectilignes, et elle est moins abondante dans les astrocytes protoplasmiques, pour lesquels on peut observer des prolongements nombreux, courts et très ramifiés (Young et al. 2010; Garman 2011).
 - Concernant les microglies, l'immunohistochimie est la meilleure technique pour les observer (**Figure 31D**).

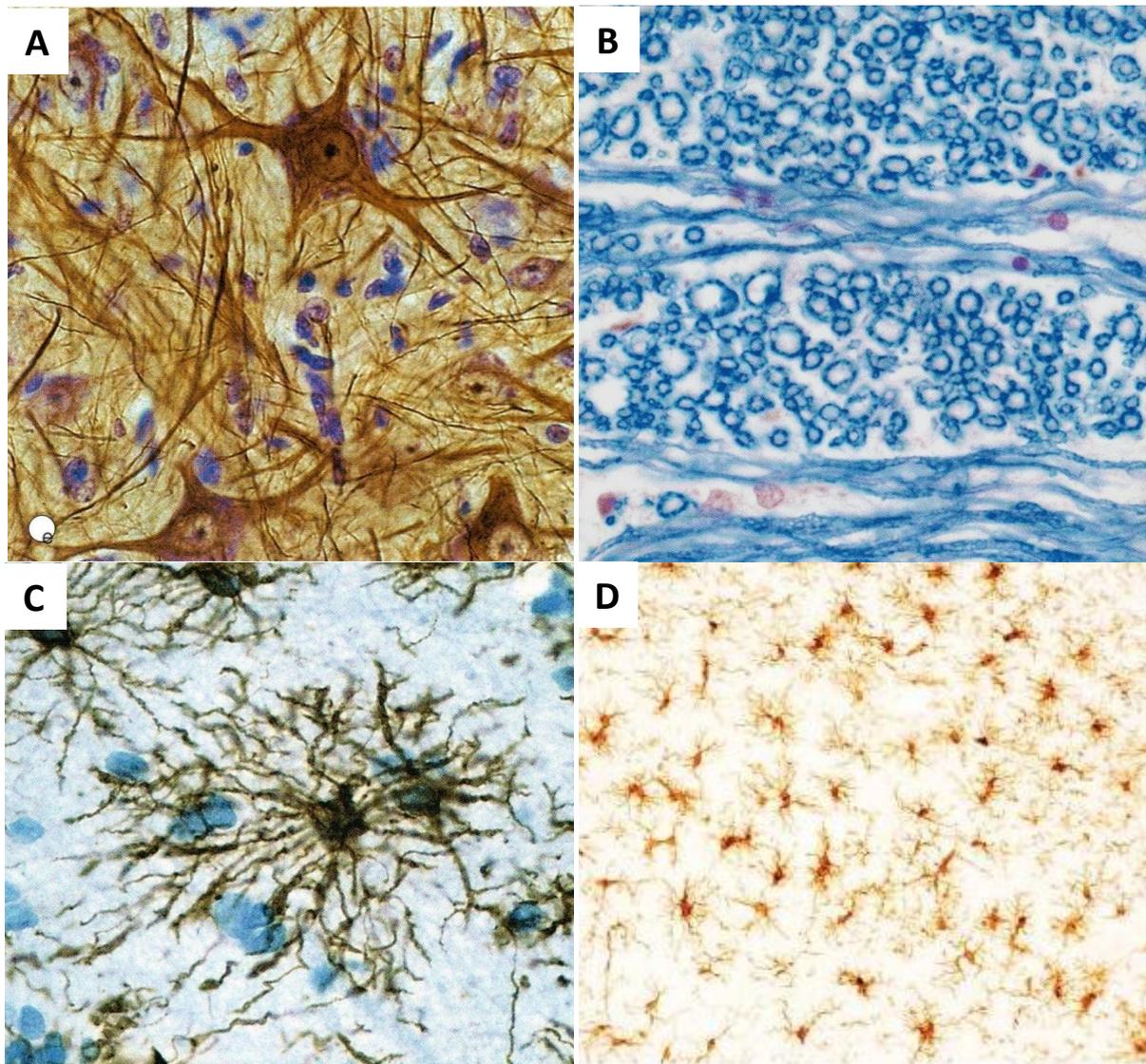


Figure 31 : Quelques exemples de préparations histologiques

A : Préparation à l'or, contre-coloration au bleu de toluidine, x 600 : la morphologie des neurones et leurs expansions cytoplasmiques est bien visible. La contre-coloration bleu révèle les noyaux des cellules gliales environnantes - *Illustration issue de « Young et al. 2010 ».*

B : Substance blanche, coupe transversale, coloration à la cyanine monochrome, x480 : chaque structure annulaire est une gaine de myéline entourant un axone, invisible à ce grossissement. - *HE, illustration issue de « Young et al. 2010 ».*

C : Coloration immunohistochimique de la GFAP, x 400 : les astrocytes et leur forme étoilée caractéristique sont mis en évidence par ce type de préparation. - *HE, illustration issue de « Young et al. 2010 ».*

D : Coloration immunohistochimique dirigée contre Iba 1 (ionized calcium-binding adaptator molecule 1), x 277 : cette préparation permet la mise en évidence des microglies - *HE, illustration issue de « Young et al. 2010 ».*

3.4. Aspect histologique des lésions élémentaires du tissu nerveux

Il ne s'agit pas ici d'établir un recueil exhaustif des lésions histologiques de l'encéphale mais de comprendre comment sont détectées des situations pathologiques au travers de quelques exemples.

3.4.1. Lésions du neurone

Les lésions du neurone peuvent concerner le corps cellulaire (neuronopathies), l'axone (axonopathie) ou la gaine de myéline (myélinopathie).

Les neurones sont les cellules les plus fragiles du système nerveux central. En particulier, ils sont très sensibles aux situations ischémiques, hypoxiques, hypoglycémiques... On peut alors observer des phénomènes de **nécrose neuronale**, dans laquelle le corps cellulaire apparaît rétracté, angulaire à triangulaire, éosinophile, avec disparition des corps de Nissl; le noyau apparaît également réduit en taille, souvent triangulaire et pycnotique, avec disparition du nucléole (**Figure 32A**).

Lorsque l'axone est atteint, la partie distale à la lésion subit une désintégration (**dégénérescence Wallérienne**) : l'axone apparaît d'abord dilaté et éosinophile puis se fragmente. Il est phagocyté avec sa gaine de myéline par des microgliaocytes et des astrocytes. En parallèle, le corps présente un phénomène de **chromatolyse centrale** : le noyau est excentrique, le corps cellulaire est dilaté, aux bords arrondis, les corps de Nissl quitte la zone centrale du cytoplasme pour se mettre en périphérie (**Figure 32B**).

3.4.2. Réactions gliales

Lors de lésions du système nerveux central et d'atteinte neuronale, les cellules gliales réagissent selon un répertoire assez simple.

En cas de perturbation du soma ou du micro-environnement neuronal, les cellules gliales prolifèrent et s'hypertrophient à sa périphérie selon un phénomène appelé la « **satellitose** » : elle concerne particulièrement les oligodendrocytes, mais pas seulement.

Lors de nécrose neuronale, un processus de **neuronophagie** se met en place par les microgliaocytes : des nodules de microgliaocytes phagocytaires se forment autour du neurone concerné. Les microgliaocytes activés ont un cytoplasme apparent avec un noyau rond, ou bien apparaissent sous la forme d'un noyau en bâtonnet ou bien encore ont un cytoplasme spumeux (vacuoles lipidiques), témoignant de l'activité phagocytaire (**Figure 32D**).

Lors de lésions du système nerveux central, les astrocytes prolifèrent et leurs prolongements cellulaires également selon un phénomène d'**astrogliose** (**Figure 32C**). Contrairement aux fibroblastes, les astrocytes ne produisent pas de collagène, ce sont les prolongements cytoplasmiques, enrichis en GFAP, qui comblent les espaces lésionnels et forment des cicatrices

gliales. Lorsque les astrocytes sont réactionnels, ils sont appelés **astrocytes gémistocytiques** et apparaissent avec un cytoplasme renflé et éosinophile, et sont parfois bi-nucléés.

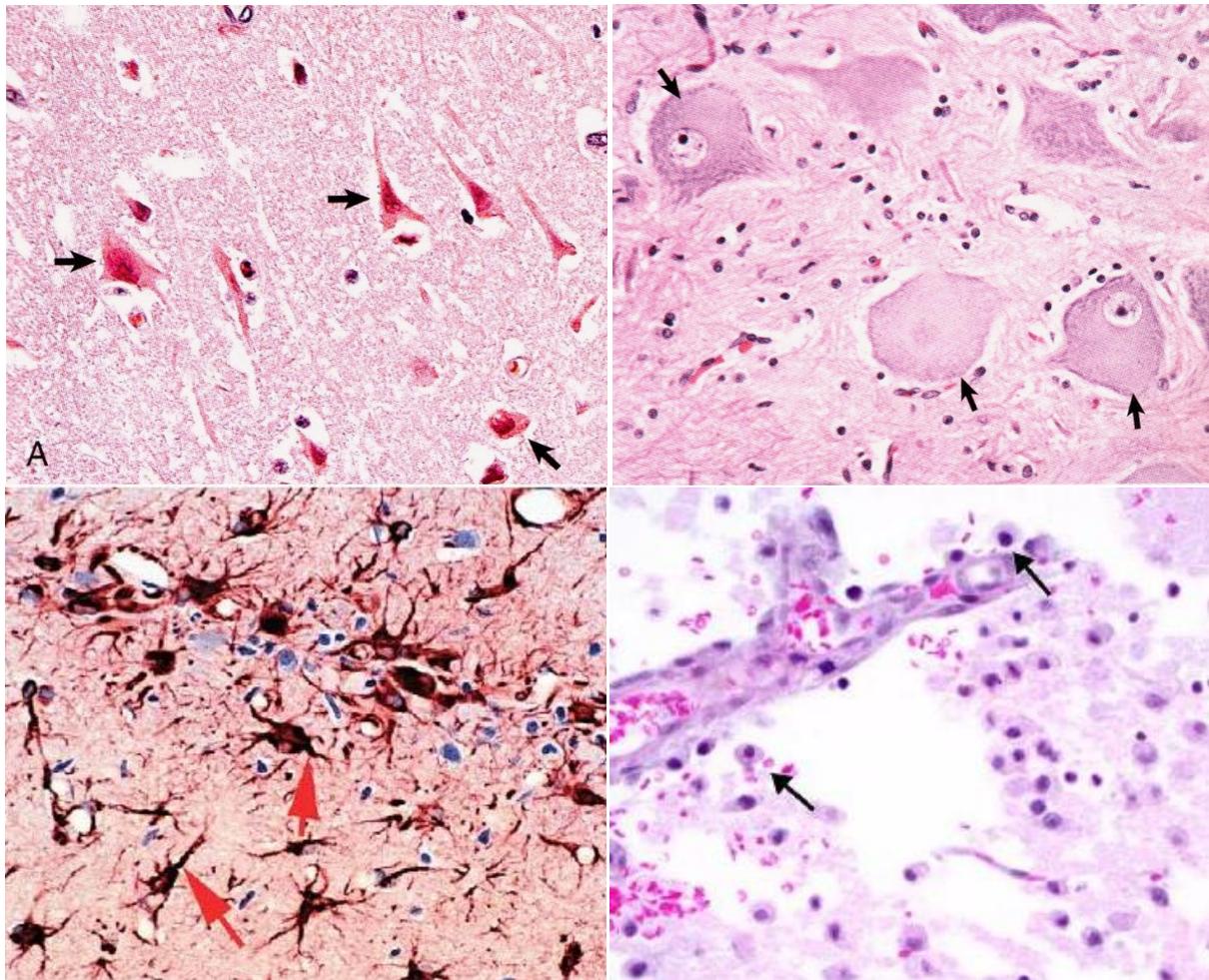


Figure 32 : Quelques exemples de lésions du tissu nerveux

A : Nécrose neuronale aiguë, cerveau de chien : les corps cellulaires neuronaux (flèches) apparaissent rétractés, triangulaires, avec un noyau contracté et dense – HE, illustration issue de « Zachary 2012 ».

B : Chromatolyse centrale, chien : les neurones ont un noyau excentré, un cytoplasme pâle au centre, les corps de Nissl (flèches) sont dispersés – HE, illustration issue de « Zachary 2012 ».

C : Astrogliose, hippocampe de rat, immunohistochimie (GFAP) : les astrocytes ont des processus épais - illustration issue de « Garman 2011 ».

D : Présence de macrophages spumeux lors d'un infarct cérébral de 72 heures
Illustration issue de « NTP Non neoplastic lesion - brain necrosis ».

4. Données actuelles en cytologie cérébrale

La littérature est encore assez pauvre en données concernant la cytologie cérébrale du chien.

La réussite d'un examen cytologique de n'importe quel organe dépend de la bonne réalisation de trois étapes. La première est l'obtention d'un spécimen représentatif suivi de son étalement immédiat sur une lame. La seconde est la réalisation d'une coloration appropriée et la troisième est l'observation au microscope (Meyer et al. 2015).

4.1. Prélèvement et étalement

Plusieurs types de préparation sont possibles pour la réalisation d'un examen cytologique de tissu nerveux : cytoponction à l'aiguille fine ; technique dite par écrasement (« squash preparation ») d'une biopsie (De Lorenzi, Mandara 2010) ; calque par impression.

– Cytoponction à l'aiguille fine : (Platt et al. 2002)

La cytoponction nécessite une aiguille fine, avec un biseau long pour permettre le carottage du tissu : l'aiguille de 22G hypodermique est la plus classiquement utilisée (Meyer et al. 2015; Layssol-Lamour 2014; Platt et al. 2002). Deux techniques de cytoponction existent : par aspiration et par carottage. La technique par aspiration est décrite pour le tissu cérébral (Platt et al. 2002). Elle se réalise par l'introduction de l'aiguille montée sur une seringue dans le tissu. Du vide est appliqué lors du prélèvement. Plusieurs prélèvements sont réalisés pour augmenter la représentativité. La technique par carottage n'est pas décrite pour l'encéphale. Dans cette technique, du vide n'est pas exercé par la seringue, le matériel est prélevé dans l'aiguille par capillarité lors de mouvements de va-et-vient.

L'étalement sur la lame doit être consécutif au prélèvement. La procédure d'étalement est illustrée par la **Figure 33**. Le contenu est placé sur une (ou plusieurs selon la quantité) lame propre et sèche (A). Une deuxième lame, perpendiculaire à la première, permet l'étalement du matériel (B) dans le but d'obtenir une zone contenant une seule couche de cellules. La lame (C) doit ensuite être séchée en vue des étapes suivantes, réalisées au laboratoire.

Cette technique de prélèvement permet de réduire le taux de complication par rapport aux biopsies par réduction de la taille de l'aiguille (Silverman et al. 1986 : débat en médecine humaine) et est particulièrement indiquée pour les lésions cérébrales situées en profondeur (Platt et al. 2002).

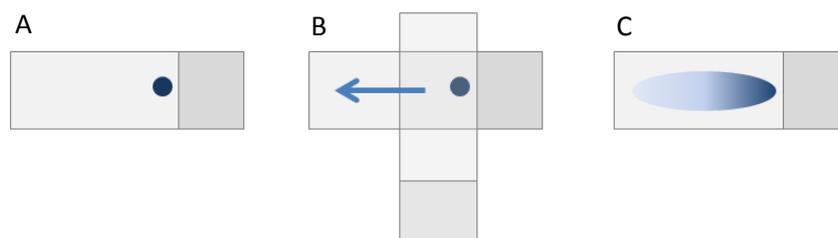


Figure 33 : Procédure d'étalement d'un prélèvement cytologique sur une lame

- Technique par écrasement (« squash préparation ») : (De Lorenzi, Mandara 2010; Long et al. 2002; Vernau et al. 2001; De Lorenzi et al. 2006)

La technique par écrasement se réalise à partir d'une biopsie cérébrale. La réalisation de cette technique est décrite sur la **Figure 34** : un petit fragment de tissu de la biopsie cérébrale est retiré à l'aide d'un scalpel (A) puis placé sur une lame (B). Une deuxième lame vient écraser le prélèvement (C) et glisse le long de la première pour l'étaler (D).

Cette technique présente l'avantage d'utiliser les mêmes fragments que ceux qui seront utilisés pour le diagnostic final histologique. Ceci permet de limiter le nombre de prélèvements et d'évaluer rapidement leur qualité (valeur diagnostique). De plus, bien qu'il ne s'agisse pas d'une préparation histologique, l'architecture du prélèvement est un peu gardée (Long et al. 2002).

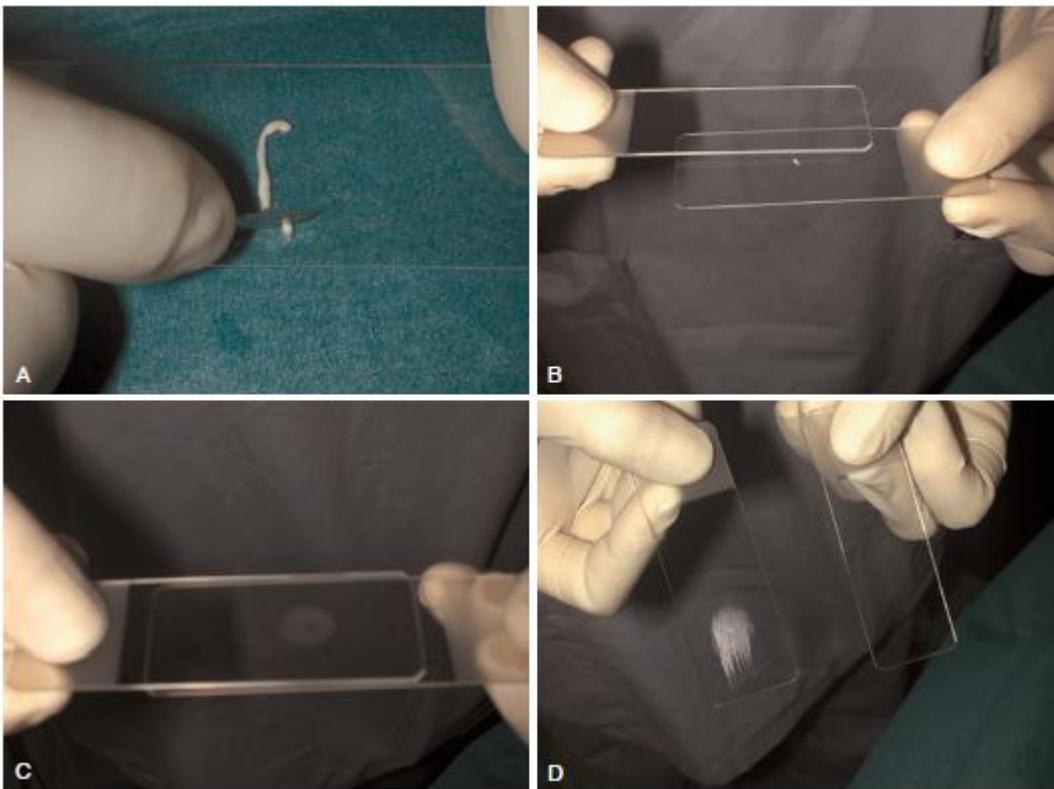


Figure 34 : Technique par écrasement (« Squash prep technique »)

Illustration issue de « De Lorenzi, Mandara 2010 »

- Technique de calque par impression : (Long et al. 2002)

La technique de calque par impression se réalise en appliquant une pièce de biopsie contre une lame porte-objet. Son utilisation en cytologie cérébrale est discutée, en particulier, il est montré que la fréquence de lames ne permettant pas d'établir un diagnostic est plus élevée qu'avec une technique par écrasement (Long et al. 2002).

4.2. Coloration

Dans la littérature, plusieurs colorations sont utilisées pour la préparation de lames cytologiques à partir de l'encéphale. Les critères de choix d'une coloration dans ce contexte sont sa rapidité de mise en œuvre, sa facilité d'exécution et la qualité dans le détail des structures cellulaires.

L'évaluation de plusieurs types de coloration (Long et al. 2002) a montré une équivalence dans la précision du diagnostic lors de l'utilisation des colorations de Wright modifiée et de May Grunwald Giemsa (MGG) tandis que la coloration au Bleu de Toluidine, utilisée couramment en neuropathologie humaine, apparaissait moins précise. Les auteurs étant moins familiers avec ce dernier type de coloration et le nombre de spécimens examinés étant faibles (11 cas), il ressort de ces résultats l'importance de l'utilisation de la coloration avec laquelle le cytologiste en charge des lames est le plus familier. Ceci constitue un autre critère de choix du type de coloration.

Quelques types de coloration mettant en évidence les détails cytoplasmiques sont exposés ci-dessous :

- Coloration au May-Grunwald-Giemsa :

Il s'agit d'une coloration polychromatique. Les structures éosinophiles sont colorées en rose par l'éosine, les structures basophiles en bleu ou violet par le bleu de méthylène et les structures azurophiles en rouge par l'azur de méthylène.

- Coloration de Wright modifiée :

Elle contient un colorant pour les structures basophiles, le bleu de méthylène et un colorant pour les structures éosinophiles, l'éosine.

- Coloration au Bleu de Toluidine :

La fixation ici ne doit pas être effectuée à l'air mais doit être réalisée immédiatement par de l'éthanol à 95 % (Long et al. 2002).

Le bleu de toluidine est basique : il présente une affinité pour les structures basophiles comme les acides nucléiques. Cette coloration est dite métachromatique car la couleur varie en fonction des éléments cellulaires fixés : certains restent de la couleur du colorant (bleu) tandis que d'autres prennent des teintes violet ou rouge. Elle met en évidence les détails nucléaires et permet de colorer les prolongements astrocytaires.

4.3. Aspect cytologique du tissu nerveux normal

La littérature est très pauvre concernant l'aspect cytologique normal du tissu nerveux du chien (De Lorenzi, Mandara 2010). Pourtant, la connaissance de l'aspect cytologique normal de l'encéphale est un préalable important à l'établissement d'un diagnostic exact.

Un étalement d'encéphale montre un fond constitué par le neuropile ainsi que les cellules du système nerveux central, qu'il n'est pas toujours aisé de reconnaître (**Figure 35A**).

Le neuropile est particulièrement visible: il est de couleur bleu violette sur une coloration au May Grunwald Giemsa et présente un aspect spumeux. Ces caractéristiques sont rarement maintenues en cas de lésions.

Les neurones sont représentés par leur corps cellulaire, les expansions cytoplasmiques ne sont pas évaluables par la coloration au May Grunwald Giemsa et font partie du neuropile. Le corps cellulaire est de forme angulaire. Il présente un cytoplasme abondant et granuleux (coloration des corps de Nissl), masquant parfois le noyau (**Figure 35B**). Celui-ci, de même qu'en histologie, est volumineux, central et présente un nucléole bien visible.

La plupart des cellules gliales sont représentées uniquement par leur noyau, leur cytoplasme n'est pas visible sur une coloration au May Grunwald Giemsa et leurs expansions font partie du neuropile. Les astrocytes apparaissent sous la forme d'un noyau ovale de 7 à 10 μm (**Figure 35C**). Cette taille augmente et s'accompagne d'une prolifération astrocytaire en cas d'astrogliose. Les oligodendrocytes apparaissent sous la forme d'un noyau rond, plus petits que les astrocytes, de 5 à 7 μm (**Figure 35D**). Les phénomènes de satellitose sont visibles sur une préparation cytologique. Les microglies apparaissent sous la forme d'un petit noyau allongé (« rod cell »). En cas de phagocytose, leur cytoplasme spumeux est visible (**Figure 35E**). Les cellules épendymaires et les cellules des plexus choroïdes ne sont pas différenciables sur une préparation cytologique. Elles sont observées en amas de cellules cubiques au noyau central, petit et rond (**Figure 35F**).

Par nature, l'architecture du tissu prélevé est perdue sur une préparation cytologique qui permet l'examen des cellules. Cependant, certaines zones ont une composition cellulaire caractéristique qui permet de les reconnaître : c'est le cas du cortex cérébelleux. On peut reconnaître la couche granulaire par son importante cellularité en petits neurones au noyau hyperchromatique et on peut apercevoir des cellules de Purkinje, grand neurone avec un unique axone dont on peut observer le départ. Une mauvaise connaissance de l'aspect cytologique normal du cerveau peut conduire à l'interprétation erronée de la présence d'une tumeur lymphoïde par confusion avec la couche granulaire.

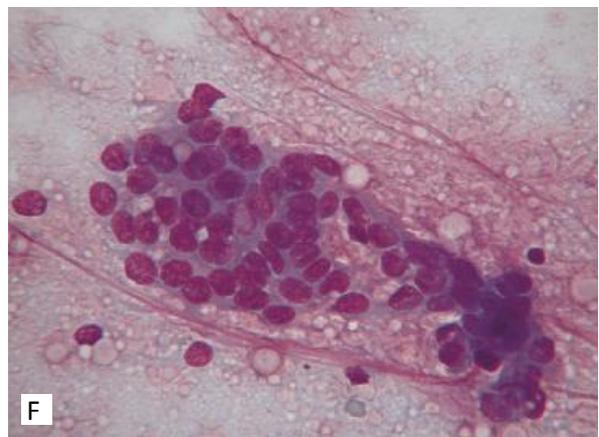
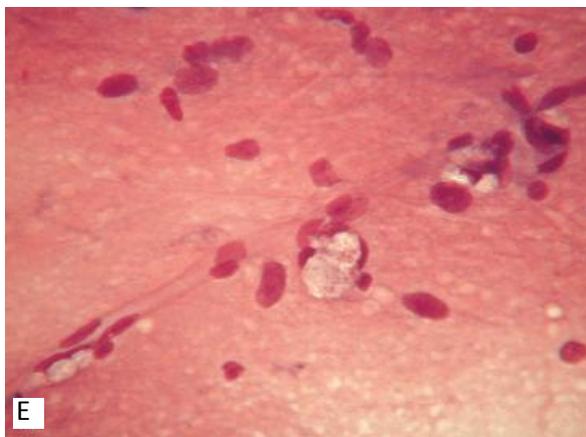
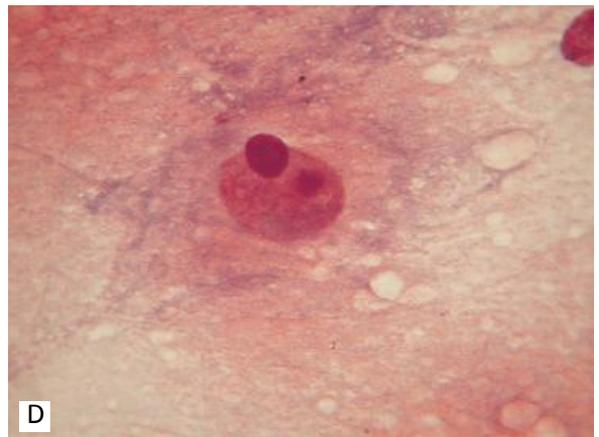
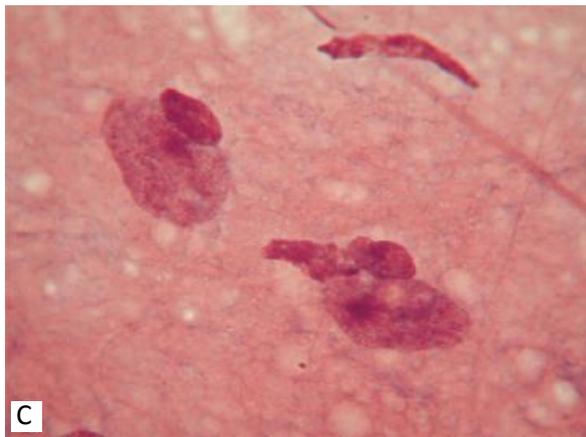
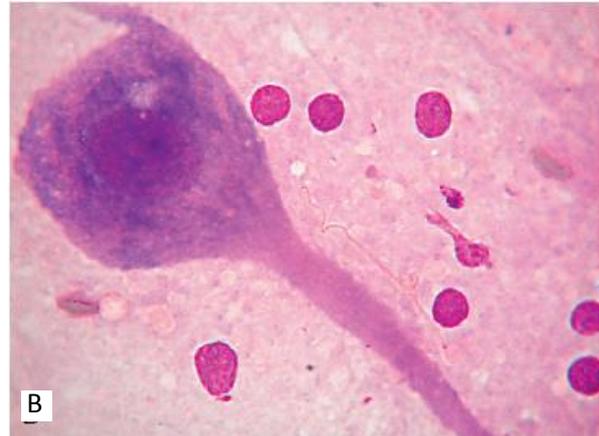
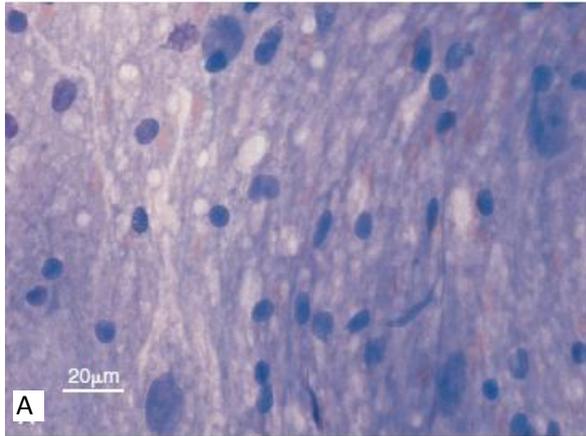


Figure 35 : Aspect cytologique du tissu nerveux normal

Illustrations issues de De Lorenzi, Mandara 2010.

A: Wright, immersion. Noter l'aspect spumeux du neuropile.

B-F: MGG, immersion.

B : Cellule de Purkinje. Ce neurone de grande taille, avec le départ de son unique axone, est situé dans le cortex cérébelleux. Les granules cytoplasmiques correspondent aux corps de Nissl et masquent partiellement le noyau.

C : Astrocytes apparaissant sous la forme d'un noyau ovale à côté des neurones.

D : Oligodendrocyte apparaissant sous la forme d'un noyau rond à côté d'un neurone.

E : Microgliocyte spumeux périvasculaire.

F : Cellules épendymaires ou cellules des plexus choroïdes.

4.4. Modifications pathologiques mises en évidence par cytologie

L'examen cytologique permet la mise en évidence du processus pathologique en cause. Il distingue un prélèvement normal, une lésion inflammatoire et une lésion tumorale avec bonne corrélation avec le diagnostic histologique selon différentes études (Long et al. 2002 : 10 chiens, 81 % ; Platt et al. 2002 : 10 chiens, 100 % ; De Lorenzi et al. 2006 : 33 chiens, 90%).

Un deuxième niveau diagnostic permet de préciser la nature des lésions. Les lésions inflammatoires (inflammation, kystes, granulomes) sont différenciées des lésions tumorales neuroépithéliales, mésenchymateuses, épithéliales ou à cellules rondes.

La performance du diagnostic cytologique à ce niveau est variable selon les études, dans lesquelles la corrélation entre la cytologie et l'histologie est variable (Long et al. 2002 : 10 chiens, 50 % ; Vernau et al. 2001 : 80 chiens, 80% ; Moissonnier et al. 2002 : 23 chiens, 69% ; Platt et al. 2002 : 10 chiens, 50%) . Ceci peut être expliqué par une différence d'expérience du cytologiste en charge des lames. Plusieurs types de lésions sont souvent sources d'erreur à l'examen cytologique. Quelques exemples peuvent être donnés :

- Les lésions inflammatoires réactionnelles peuvent être confondues avec une lésion tumorale (gliose confondue avec astrocytome de bas-grade) (Long et al. 2002).
- Les tumeurs épendymaires et des plexus choroïdes peuvent être confondues avec un adénocarcinome : cellules épithélioïdes, rondes à polygonales, au cytoplasme bien défini, avec un noyau rond et un nucléole bien visible, arrangées par fragments d'allures glandulaires sont les caractéristiques communes de ces deux types de tumeurs. L'historique du patient est alors à considérer avec attention, en particulier la présence d'une tumeur primitive connue (De Lorenzi et al. 2006).

4.5. Intérêts et limites de l'examen cytologique

L'examen cytologique est une première étape du diagnostic microscopique, réalisé pendant le temps chirurgical, et doit être confirmé et complété par l'examen histologique de laboratoire. Ses avantages sont sa rapidité, sa facilité de mise en œuvre, avec un équipement réduit, et une bonne qualité d'observation de l'échantillon. Il possède plusieurs limites qu'il faut garder en tête pour bien utiliser cet examen complémentaire. Certaines tumeurs, de consistance ferme ou fibreuse, ne se prêtent pas aux préparations cytologiques (Vernau et al. 2001; Long et al. 2002). De plus, l'examen cytologique nécessite une grande expérience et connaissance du tissu nerveux normal de la part du cytologiste en charge de l'examen des lames, or la cytologie cérébrale est peu développée. En effet, des erreurs d'interprétation peuvent être faites à cause des caractéristiques cytologiques cérébrales particulières en fonction de la localisation et à cause de la faible quantité de matière examinée lors d'un examen cytologique.

5. Aspect histologique et cytologique des gliomes diffus canins

5.1. Définition et enjeux

L'incidence des tumeurs cérébrales chez le Chien est de 14,5 à 20 pour 100 000 individus, la prévalence est comprise entre 2 et 4,5 % selon les études (Snyder et al. 2006; Song et al. 2013). Parmi ces tumeurs cérébrales, 36,6 % sont des gliomes, soit une prévalence de 1% chez les chiens de plus d'un an.

Il existe une classification OMS (Organisation Mondiale de la Santé) des tumeurs du système nerveux central pour l'espèce canine, mais elle n'a pas été mise à jour depuis 1999 (Koestner et al. 1999). En pratique, c'est donc généralement la classification OMS de l'Homme qui est utilisée. Les gliomes correspondent à l'ensemble des tumeurs dérivées de la glie. Ils sont subdivisés selon le type de cellule gliale duquel ils sont supposés provenir, ce qui permet de distinguer les tumeurs astrocytaires, oligodendrogiales, oligoastrocytaires, épendymaires et celles des plexus choroïdes (Louis, Ohgaki, Wiestler, Cavenee 2007). Chacun de ces types tumoraux est ensuite de nouveau divisé en grades selon le degré de malignité, les bas-grades (OMS I et II) étant des tumeurs de faible agressivité et les haut-grades (OMS III et IV) des tumeurs infiltrantes et de mauvais pronostic.

Parmi les gliomes, une sous-catégorie est désignée sous les termes de « gliomes diffus » qui regroupent les astrocytomes de grade II, de grade III, de grade IV (i.e. glioblastome), les oligodendrogliomes de grade II et III, et les oligoastrocytomes de grade II et III. Seuls les critères histologiques sont utilisés pour pouvoir différencier les gliomes diffus du Chien dans la mesure où les critères moléculaires utilisés dans la classification OMS 2016 (**Tableau 4**) - co-délétion 1p19q, mutation *IDH1* et *IDH2*, mutation *ATRx* - ne sont pas applicables aux gliomes canins.

Les gliomes diffus du Chien ressemblent fortement aux gliomes diffus de l'Homme en termes d'aspect macroscopique, microscopique, d'infiltration et de néo-angiogenèse tumorale. Depuis quelques années, l'utilisation du Chien spontanément atteint de gliomes diffus comme modèle d'étude pour l'Homme apparaît comme une perspective pertinente pour tester de nouvelles stratégies thérapeutiques. En effet, les gliomes diffus chez l'Homme sont associés à un mauvais pronostic malgré un traitement multimodal ; la prise en charge thérapeutique permettant d'améliorer le pronostic de ce type de tumeurs continue donc à faire l'objet de recherche.

L'utilisation du Chien comme modèle d'étude implique l'inclusion de patients canins atteints de gliomes dans des projets de recherche clinique visant à évaluer l'efficacité de nouveaux traitements, ce qui nécessite forcément une analyse histologique de la masse tumorale préalable. Du fait de la difficulté à obtenir des prélèvements de tumeurs cérébrales du vivant de l'animal, les études qui se sont attachées à l'analyse histologique des gliomes chez le Chien se sont basées sur des examens microscopiques de fragments obtenus en *post-mortem*.

Tableau 4 : Classification OMS 2016 des gliomes (chez l'Homme)

Tableau établi d'après les informations issues de « Louis et al. 2016 »

Groupe	Entité :		Grade :				
	- Histologie	- Trait génétique	I	II	III	IV	
Tumeurs astrocytaires et oligodendrogiales diffuses	Astrocytome diffus	IDH-mutant		X			
		IDH-sauvage		X			
		NOS		X			
	Astrocytome anaplasique	IDH-mutant				X	
		IDH-sauvage				X	
		NOS				X	
	Glioblastome	IDH-mutant					X
		IDH-sauvage					X
		NOS					X
		Gliome diffus de la ligne médiane	H3K27M-mutant				X
		Oligodendrogliome	IDH-mutant et 1p/19q codéléété		X		
			NOS		X		
			IDH-mutant et 1p/19q codéléété				X
Oligodendrogliome anaplasique		NOS				X	
		NOS		X			
Oligoastrocytome anaplasique		NOS				X	
Autres tumeurs astrocytaires	Astrocytome pilocytique		X				
	Astrocytome sous épendymaire à cellules géantes		X				
	Xanthoastrocytome pléomorphique			X			
	Xanthoastrocytome pléomorphique anaplasique					X	
Ependymomes	Subépendymome		X				
	Ependymome myxopapillaire		X				
	Ependymome			X			
	Ependymome RELA fusion-positif			X	X		
	Ependymome anaplasique					X	
Autres gliomes	Gliome angiocentrique		X				
	Gliome choroïde du 3 ^{ème} ventricule			X			
Tumeurs des plexus choroïdes	Papillome des plexus choroïdes		X				
	Papillome atypique des plexus choroïdes			X			
	Carcinome des plexus choroïdes					X	

NOS : *Not Otherwise Specified*, le profil moléculaire n'a pas pu être établi. Cases colorées en vert, orange et violet : tumeurs respectivement classées dans les tumeurs astrocytaires, oligodendrocytaires et gliomes mixtes selon la classification de 2007. Les variants ne sont pas mentionnés dans ce tableau.

5.2. Caractéristiques histologiques des gliomes diffus canins

5.2.1. *Astrocytomes diffus et anaplasiques*

Les astrocytomes diffus sont des tumeurs cérébrales de grade II, qui évoluent souvent en astrocytomes anaplasiques (grade III) puis en glioblastome (grade IV).

D'un point de vue histopathologique, les astrocytomes diffus sont des proliférations tumorales dont la densité cellulaire est modérément augmentée, composées d'astrocytes bien différenciés. Des atypies nucléaires sont parfois présentes, les figures de mitose sont très rares. Les astrocytes tumoraux sont reconnaissables par un noyau de taille augmenté, excentré dans un cytoplasme qui devient visible (éosinophile). Le neuropile est modifié : il apparaît non structuré et parfois microcystique. Il n'est jamais observé de nécrose ou de prolifération microvasculaire. C'est l'augmentation du nombre et surtout la monotonie de la morphologie des astrocytes, sur un fond microcystique, qui permet de reconnaître la lésion néoplasique, en particulier de la différencier d'une lésion réactionnelle.

Les astrocytomes anaplasiques (grade III) se différencient des astrocytomes diffus par une densité cellulaire plus élevée, des atypies cyto-nucléaires plus marquées et la présence de prolifération microvasculaire.

5.2.2. *Oligodendrogliomes et oligodendrogliomes anaplasiques*

Les oligodendrogliomes sont des tumeurs cérébrales de grade II qui peuvent évoluer en oligodendrogliome anaplasique (grade III).

D'un point de vue histopathologique, les oligodendrogliomes sont des proliférations tumorales de densité cellulaire modérée. Les oligodendrocytes néoplasiques apparaissent avec un noyau rond hyperchromatique, de taille un peu plus importante que ceux d'oligodendrocytes normaux. De manière artéfactuelle sur une préparation histologique, la membrane cytoplasmique est bien visible autour d'un cytoplasme clair. Cette architecture est caractéristique et porte le nom de « nid d'abeille ».

Les oligodendrogliomes anaplasiques présentent en plus une densité cellulaire plus marquée, des figures de mitose fréquentes et des aires de microcalcification. La microvascularisation est souvent très marquée (davantage que sur un oligodendrogliome) et des aires de nécrose sont visibles. Des astrocytes gémissocytiques sont fréquents dans les oligodendrogliomes anaplasiques.

5.2.3. *Glioblastomes*

Les glioblastomes sont des tumeurs cérébrales astrocytaires de grade IV, qui se développent *de novo* ou suite à la transformation maligne d'un astrocytome de plus bas grade. Les traits communs sont la forte densité cellulaire de la tumeur, avec infiltration du tissu sain adjacent, composée d'astrocytes peu différenciés, avec de nombreuses atypies cyto-nucléaires et une activité mitotique intense. En outre, ils sont caractérisés par la présence d'une hyperplasie microvasculaire. Les zones de nécrose entourées de cellules tumorales arrangées en pseudo-palissade sont caractéristiques du glioblastome.

5.2.4. *Oligoastrocytomes et oligoastrocytomes anaplasiques*

Les oligoastrocytomes sont des proliférations tumorales composées de deux populations cellulaires néoplasiques distinctes : les astrocytes et les oligodendrocytes. Les caractéristiques des astrocytomes et oligodendrogliomes, décrites précédemment, se retrouvent dans ces tumeurs.

La figure ci-après illustre la description histologique des gliomes diffus du Chien.

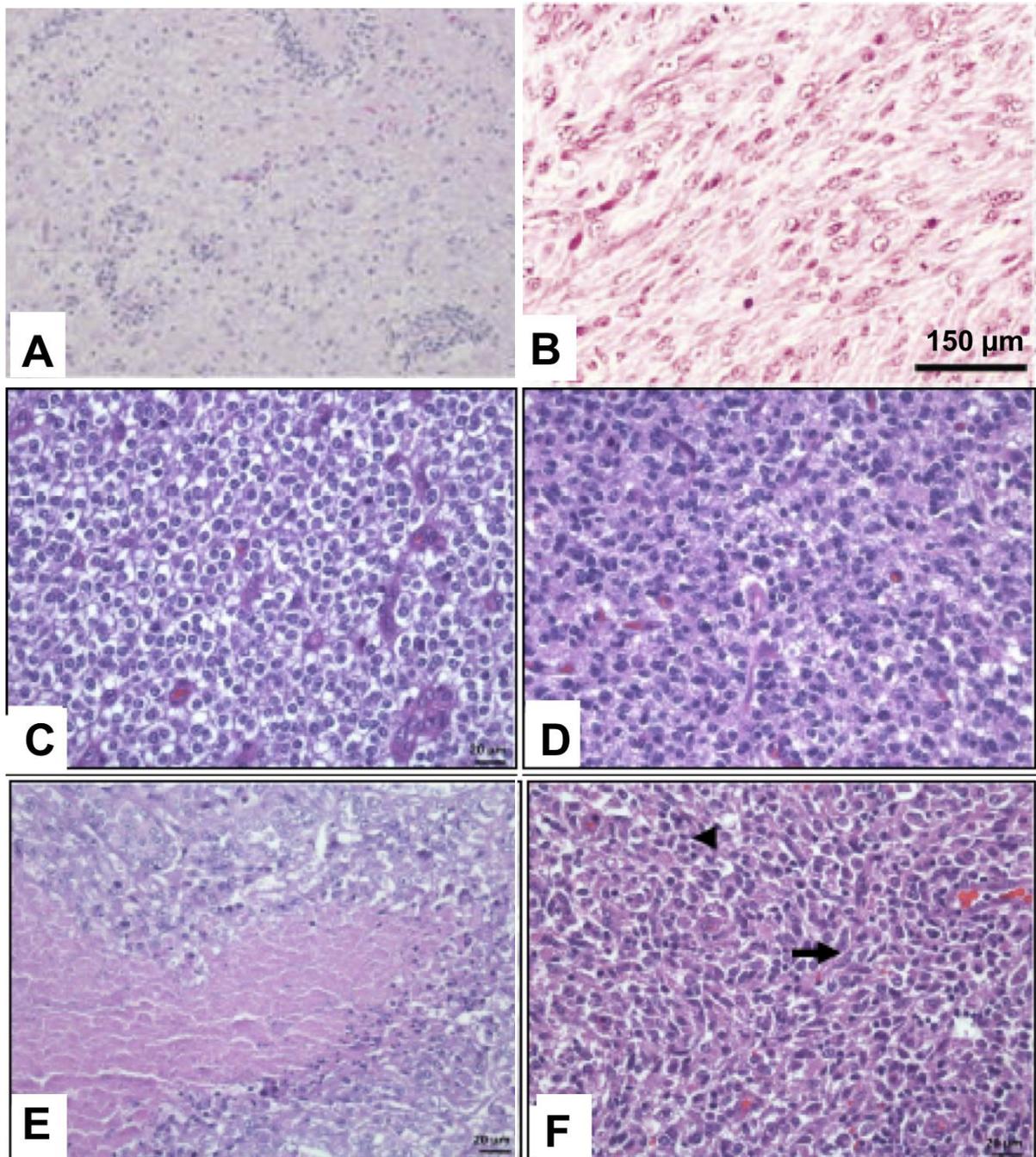


Figure 36 : Aspect histologique des gliomes diffus du Chien

A : Astrocytome de grade II. Prolifération d'astrocytes tumoraux sans hyperplasie microvasculaire ni zone de nécrose – Illustration issue de « Bentley et al. 2013 ».

B : Astrocytome de grade III caractérisé par une cellularité, des atypies cyto-nucléaires et une activité mitotique importantes - Illustration issue de « Stoica et al. 2004 ».

C – F : Illustrations issues de « Fernández et al. 2016 ».

C : Oligodendrogliome de grade II démontrant une architecture dite « en nid d'abeille », cet aspect caractéristique provient d'un agencement compact des oligodendrocytes, cellules polyédriques au cytoplasme clair disposé en anneau autour d'un noyau hyperchromatique et délimité par une membrane plasmique éosinophile.

D : Oligodendrogliome de grade III démontrant une architecture solide. Les oligodendrocytes, bien que reconnaissables par leur aspect rond à polyédrique, présentent une anisocytose et une anisocaryose marquées.

E : Glioblastome (astrocytome de grade IV) : l'agencement des cellules tumorales en palissades autour d'un foyer de nécrose fait partie des caractéristiques de cette tumeur.

F : Oligoastrocytome anaplasique démontrant deux populations cellulaires : une représentée par des cellules rondes avec un cytoplasme éosinophile mal délimité (oligodendrocytes, tête de flèche) et une seconde par des cellules allongées (astrocytes, flèche).

5.3. Caractéristiques cytologiques des gliomes diffus canins

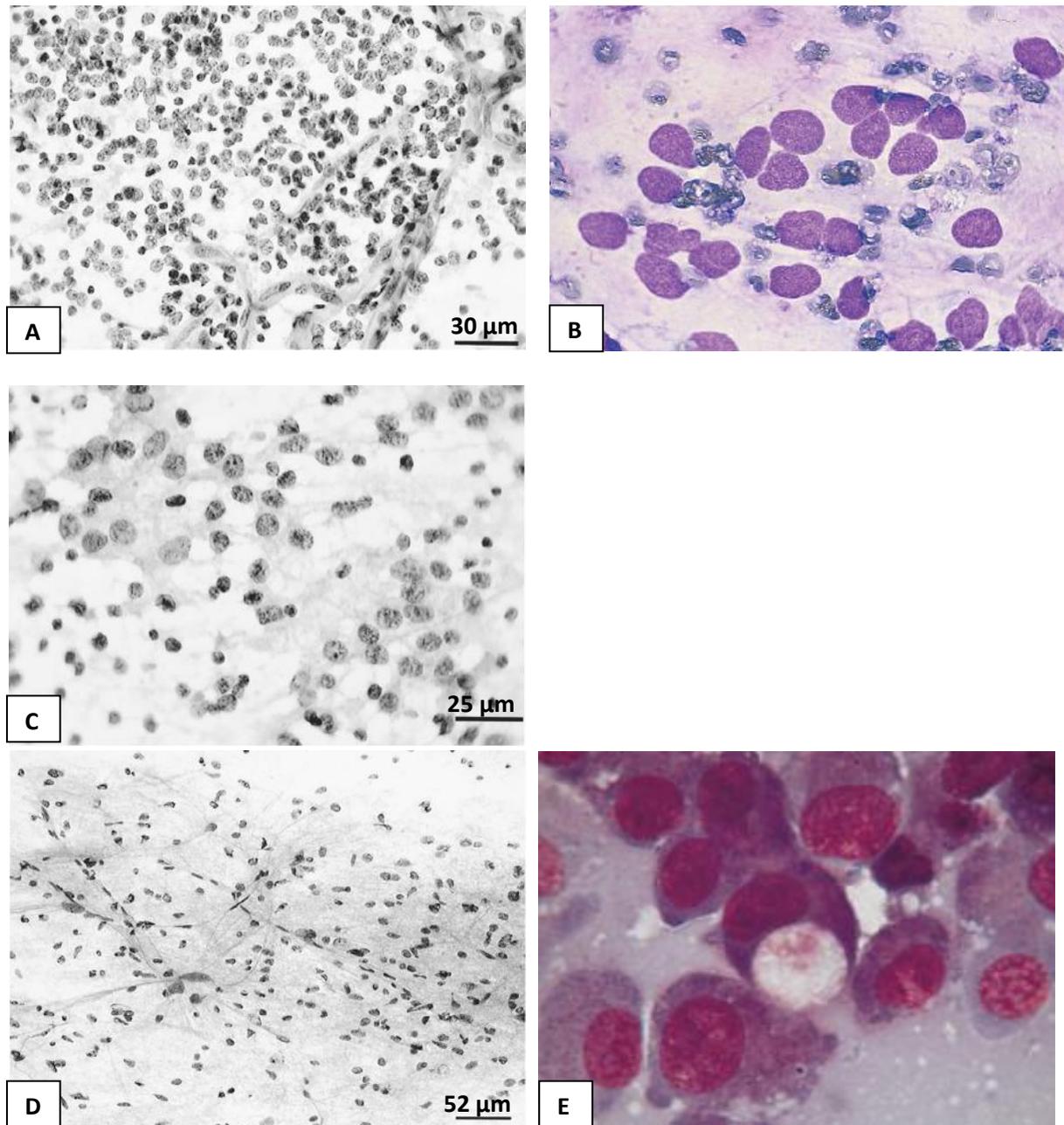


Figure 37 : Aspect cytologique des gliomes diffus du Chien

A, C, D : Illustrations issues de « Vernau et al. 2001 ».

B,E : Illustrations issues de « De Lorenzi, Mandara 2010 ».

A : HE, « squash preparation ». Oligodendrogliome. Prolifération d'oligodendrocytes tumoraux, apparaissant sous la forme de petits noyaux ronds (basophiles), marqués par une anisocaryose discrète et contenant une chromatine granulaire, entourés d'un cytoplasme (éosinophile) mince aux bords non définis. Sur une préparation cytologique, il est à noter que l'aspect en « nid d'abeille » dû au halo cytoplasmique n'apparaît pas.

B : Wright-Giemsa, à l'immersion, aspiration. Oligodendrogliome. Ici, les oligodendrocytes tumoraux apparaissent sous la forme d'un noyau de grande taille avec un halo clair périphérique.

C : HE, « squash preparation ». Oligodendrogliome anaplasique. Les oligodendrocytes tumoraux présentent une anisocytose et une anisocaryose marquées. Les cellules de taille importante présentent un cytoplasme abondant.

D: HE, « squash preparation ». Astrocytome. Prolifération d'astrocytes tumoraux, reconnaissables par leur noyau allongé. Anisocaryose modérée.

E : MGG, à l'immersion, « squash preparation ». Astrocytome. Prolifération d'astrocytes présentant des ressemblances avec les astrocytes réactionnels : cytoplasme renflé, basophile avec un noyau excentré.

Synthèse :

Le diagnostic de certitude concernant la nature d'une masse intracrânienne détectée par imagerie médicale nécessite la réalisation d'un prélèvement en vue de son examen microscopique.

L'abord de l'encéphale par craniotomie et la réalisation d'une biopsie à main levée est possible lors de masses superficielles mais présente très vite des limites dès que la lésion est peu accessible. En médecine humaine, les techniques de biopsies stéréotaxiques par guidage tomodensimétrique ou par IRM sont la norme. Dans l'espèce canine, plusieurs études ont contribué à leur adaptation mais elles restent difficiles d'accès et présentent un coût très élevé. Il a été démontré que le guidage échographique est utilisable, à la fois en médecine humaine et en médecine canine. Il est utilisé en médecine humaine, en particulier chez l'enfant. Il s'agit d'une technique adaptative et sûre (visualisation des structures en temps réel). L'abord chirurgical peut être par craniotomie ou par trépanation.

L'examen histologique sur pièce d'exérèse est l'examen de référence pour l'établissement du diagnostic définitif, tant en médecine vétérinaire qu'en médecine humaine. L'examen histologique sur pièces de biopsies est également validé. L'examen cytologique a démontré sa validité et son intérêt en médecine humaine où il est utilisé pour une préparation, une lecture et une première interprétation pendant le temps opératoire. En médecine vétérinaire, la pratique de l'examen cytologique a fait l'objet de plusieurs études qui tendent également à sa validation, pour les uns comme une alternative à l'histologie, pour les autres comme une étape complémentaire préalable à l'examen histologique.

Comme on le voit ici, l'étude de l'histologie et de l'histologie cérébrale canine s'appuie sur les connaissances acquises en neuropathologie humaine. Réciproquement, le Chien présente des gliomes spontanés et apparaît depuis plusieurs années comme un modèle animal adapté pour l'étude des gliomes humains. La première étape indispensable au recrutement et à la prise en charge de patients canins est la mise en place des outils d'imagerie médicale et microscopiques chez le chien sain. La partie expérimentale de cette thèse s'inscrit dans cet objectif. Il s'agit d'une étude de faisabilité qui vise à évaluer la qualité du matériel tissulaire et cellulaire issu de biopsies et cytoponctions échoguidées d'encéphale de Chien sain.

PARTIE EXPERIMENTALE

I. Objectifs et contexte

Lors de tumeurs cérébrales chez le Chien, l'imagerie (scanner TDM et Imagerie par Résonance Magnétique) se révèle insuffisante pour obtenir un diagnostic de certitude quant au type et au grade. La réalisation d'une biopsie et/ou d'une cytoponction de la tumeur s'avère alors nécessaire ; cet acte reste cependant marginal car il requiert l'emploi d'un cadre stéréotaxique difficile à utiliser chez le Chien du fait d'une grande variabilité de forme de crâne selon les races. L'obtention de matériel cellulaire et tissulaire permettrait pourtant (i) d'améliorer la prise en charge thérapeutique de ces tumeurs chez le Chien en adaptant le traitement au type de tumeur, et (ii) d'ouvrir la voie à des projets de recherche en médecine translationnelle. En effet, le gliome canin est proche du gliome humain, le Chien atteint de gliome représente donc un modèle pertinent pour l'évaluation de nouvelles stratégies destinées au traitement de cette tumeur chez l'Homme.

Le présent travail s'inscrit dans le cadre d'un projet visant à utiliser l'échographie pour guider les biopsies et cytoponctions de tumeurs cérébrales chez le Chien.

L'évaluation de la faisabilité d'une telle démarche représente la première étape du projet, qui elle-même se décline en deux volets :

- évaluation de la qualité des images échographiques de l'encéphale du Chien ;
- évaluation de la qualité du matériel tissulaire/cellulaire issu d'une biopsie/cytoponction échoguidée d'encéphale de Chien.

Cette étude de faisabilité a été réalisée sur cadavres de chiens sains. Le premier volet a fait l'objet d'une thèse d'exercice vétérinaire intitulée « Etude de faisabilité de l'échographie cérébrale chez le chien adulte sain pour une investigation des tumeurs cérébrales » (Gervais 2017). Cette thèse a démontré que l'examen échographique de l'encéphale après craniotomie permettait effectivement d'identifier les principales structures de l'encéphale chez le Chien.

L'étude de faisabilité de prélèvements histologiques et cytologiques d'encéphale de chien sain est l'objet de la présente thèse.

II. Matériel et méthodes

1. Cadavres

Deux cadavres de Chien Beagle, mâles adultes, fournis par un laboratoire de recherche privé, ont été utilisés pour cette étude.

- Le premier cadavre a été préparé afin de fixer l'encéphale *in situ*, qui est ainsi désigné sous les termes «encéphale fixé» dans le reste du manuscrit. Pour cela, une solution de formaldéhyde 10% a été injectée par voie intra-carotidienne après la mise à mort et saignée de l'animal. Une craniotomie rostro-tentoriale large (5*3 cm) a ensuite été réalisée sur le cadavre à l'aide d'un bistouri à lame froide et d'une scie circulaire, afin de permettre l'examen échographique de l'encéphale et la réalisation de biopsies échoguidées.
- Pour le second cadavre, l'encéphale n'a pas été fixé *in situ*, il est donc désigné sous les termes «encéphale non fixé» dans le reste du manuscrit. Une craniotomie rostro-tentoriale d'extension plus restreinte (2*1,5 cm) a été réalisée sur le cadavre dans la demi-heure suivant la mise à mort de l'animal. Des biopsies et cytoponctions échoguidées ont été réalisées, le gel couplant a alors été placé dans un doigt de gant en latex non talqué afin de ne pas altérer les prélèvements cytologiques par la mise en contact du gel.

Les protocoles de mise à mort des animaux sont détaillés dans la thèse « Etude de faisabilité de l'échographie cérébrale chez le chien adulte sain pour une investigation des tumeurs cérébrales » (Gervais 2017).

Deux protocoles différents de préparation des cadavres ont été utilisés afin de répondre au mieux aux questions de l'étude. En effet, le tissu nerveux se dégrade rapidement après la mort : réaliser une biopsie d'encéphale sur un cadavre présente le risque de ne pouvoir conclure quant à la qualité du prélèvement du fait de l'autolyse. C'est afin de pallier ce problème que les biopsies ont tout d'abord été réalisées chez un cadavre dont l'encéphale a été fixé par du formaldéhyde. Cependant, la fixation de l'encéphale modifie la consistance de celui-ci et empêche la préparation de lames pour examen cytologique; pour se rapprocher le plus possible de conditions « per-opératoires » et pouvoir réaliser les lames cytologiques, la deuxième manipulation a été réalisée sans fixation préalable des tissus.

2. Prélèvements tissulaires

Plusieurs biopsies échoguidées ont été réalisées à l'aide d'un pistolet à biopsie semi-automatique supercore avec une aiguille de diamètre 16 G. Les prélèvements ont ensuite été placés dans une caissette immergée dans un pot de formaldéhyde 10% jusqu'à leur préparation pour la réalisation des lames (i.e. 48 heures après prélèvement).

Les cytoponctions à l'aiguille fine (au nombre de sept), réalisées uniquement sur le second cadavre, ont été faites à l'aide d'une aiguille hypodermique de diamètre 23 G, par carottage ou aspiration. Le matériel a ensuite été étalé sur des lames et séché. Quatre cytoponctions ont été réalisées à l'aveugle et trois cytoponctions ont été réalisées à l'aide d'un guidage échographique.

Les données concernant les prélèvements sont récapitulées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 5 : Récapitulatif des prélèvements réalisés

	CADAVRE 1	CADAVRE 2
Fixation de l'encéphale	Oui	Non
Craniotomie	Craniotomie rostro-tentoriale 5 * 3 cm	Craniotomie rostro-tentoriale 2 * 1.5 cm
Prélèvements réalisés	Biopsies échoguidées (aiguille à biopsie 16 G)	Biopsies échoguidées (aiguille à biopsie 16 G) Cytoponctions échoguidées (aiguille 23 G) par aspiration et carottage

3. Préparation des lames et interprétation

– Préparation des lames pour l'examen histologique

Les biopsies, fixées dans du formaldéhyde 10%, ont été déshydratées, incluses en paraffine, coupées en sections de 5 µm d'épaisseur, disposées sur des lames puis colorées à l'Hémalun-Eosine (HE).

– Préparation des lames pour l'examen cytologique

Le matériel a été directement étalé sur des lames et séché. Les lames ont été colorées au May Grünwald Giemsa (MGG).

– Interprétation

L'évaluation de la qualité des prélèvements au microscope optique repose sur la capacité à reconnaître les populations cellulaires d'intérêt (neurones, astrocytes, oligodendrocytes, microglies, épendymocytes). Pour les biopsies, l'évaluation de la qualité prend aussi en considération la capacité à reconnaître la structure cérébrale prélevée.

III. Résultats

1. Examen microscopique des biopsies

L'examen microscopique des biopsies, qu'elles aient été obtenues à partir d'encéphale fixé ou non, sont de qualité satisfaisante. Elles permettent de reconnaître les populations cellulaires du tissu nerveux et d'identifier le site de prélèvement dans l'encéphale.

Pour le premier cadavre, quatre sites ont été identifiés : le cervelet, le gyrus denté, une structure non spécifique de substance blanche et un plexus choroïde.

Pour le second cadavre, le cervelet et une structure non spécifique de substance blanche ont pu être observés au microscope.

1.1. Biopsies de cervelet

L'examen microscopique des biopsies de cervelet, que celles-ci aient été réalisées à partir d'encéphale fixé ou non, révèle l'architecture typique de cette structure encéphalique : un cortex externe organisé en trois couches (de la plus externe à la plus interne : couche moléculaire, couche des cellules de Purkinje et couche granulaire) séparé par des lames de substance blanche (cf. Figure ci-dessous).

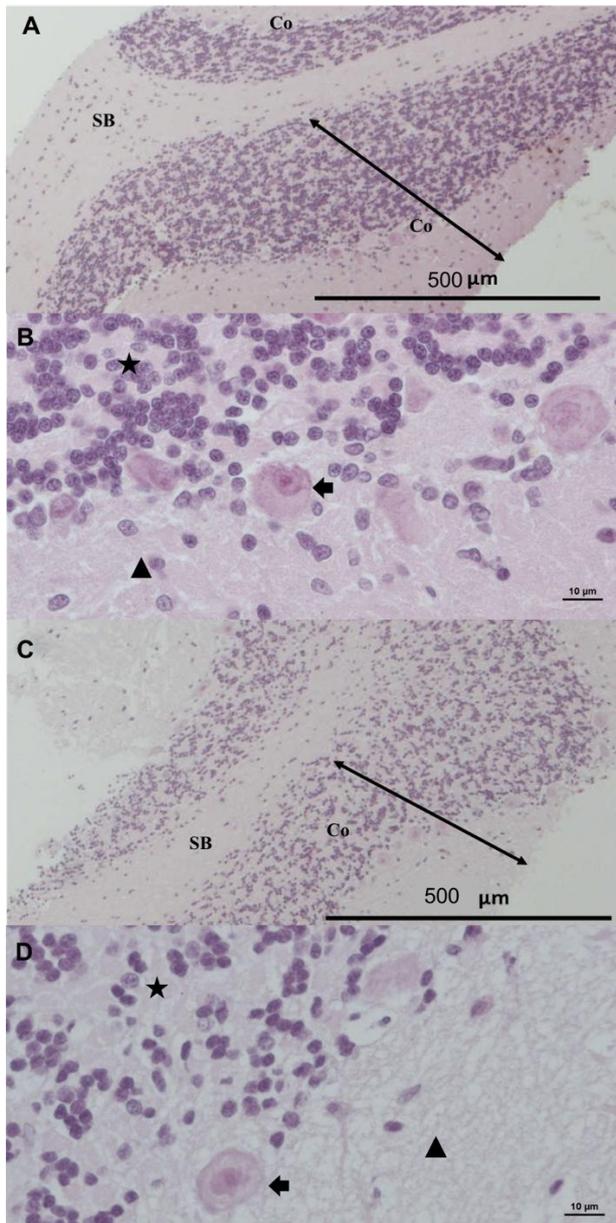


Figure 38: Aspect microscopique des biopsies de cervelet

Encéphale fixé à faible (A, X40) et fort grossissement (B, X400)

Encéphale non fixé à faible (C, X40) et fort grossissement (D, X400).

A et C : Le cortex cérébelleux (Co) est reconnaissable par son aspect caractéristique en trois couches. De la substance blanche (SB) sépare deux portions de cortex.

B et D : La couche la plus externe du cortex cérébelleux est la couche moléculaire (triangle) : elle est constituée par les expansions neuronales (fond éosinophile) et par des cellules gliales en quantité limitée. La couche intermédiaire est constituée par des gros neurones : les cellules de Purkinje (flèche). La couche profonde est la couche granulaire (étoile) : on peut y voir les nombreux noyaux denses des petits neurones qui la constituent.

Il est à noter, pour les biopsies sur encéphale non fixé, l'aspect altéré des cellules de Purkinje et des cellules de la couche à grain, signifiant un début d'autolyse.

1.2. Biopsies de substance blanche

L'examen microscopique des biopsies de substance blanche préparées à partir d'encéphale fixé ou non reflète correctement l'organisation et la composition de ce tissu nerveux : un réseau de fibres nerveuses le long desquelles s'alignent des oligodendrocytes interfasciculaires. Des lésions élémentaires sont également détectables : microgliose, infiltrat périvasculaire, satellitose pathologique (cf. Figure ci-dessous).

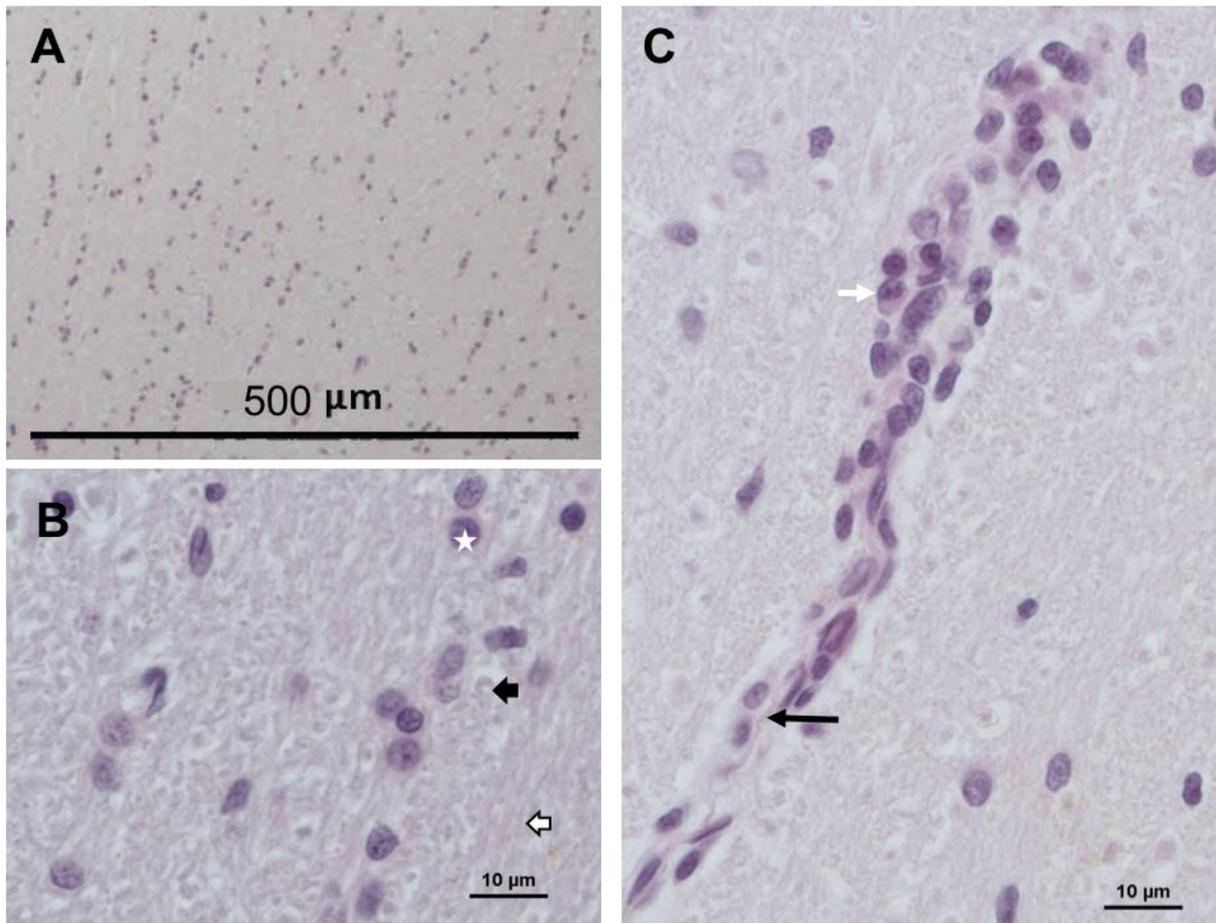


Figure 39 : Aspect histologique de la substance blanche (Encéphale fixé)

A : Aspect à faible grossissement (HE ; X20). La substance blanche est constituée d'axones (fond éosinophile) et d'oligodendrocytes interfasciculaires (noyaux basophiles alignés).

B et C : Aspect à fort grossissement (HE ; X100)

B : Un alignement oligodendrocytaire (étoile) est observable. Les axones apparaissent en coupe transversale (flèche noire) ou longitudinale (flèche blanche).

C : Un phénomène pathologique en cours est visible : un infiltrat mononucléé apparaît autour d'un vaisseau sanguin (la flèche fine noire indique une cellule endothéliale et la flèche fine blanche indique une cellule immunitaire).

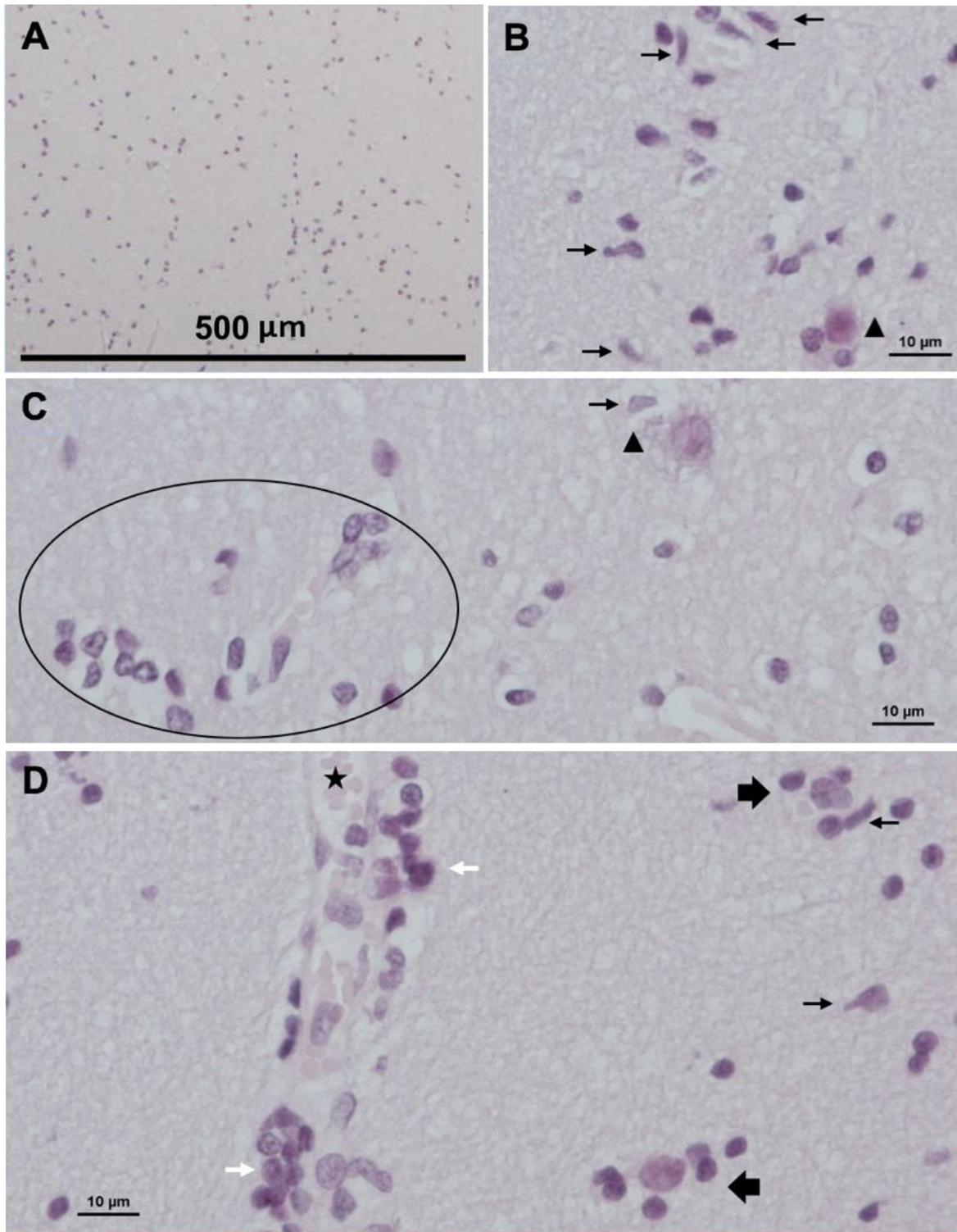


Figure 40 : Aspect histologique de la substance blanche (Encéphale non fixé)

A : Aspect à faible grossissement (HE ; X20). Comme sur les lames d'encéphale fixé, la substance blanche est reconnaissable par la présence d'oligodendrocytes interfasciculaires (noyaux basophiles alignés) sur un fond éosinophile d'axones.

B, C et D : Aspect à fort grossissement (HE ; X100) montrant des altérations pathologiques dans la substance blanche de l'animal.

B : Phénomène de microgliose : un nombre important de microgliocytes (flèche fine noire) est observé sur la préparation. Noter également la présence d'un neurone altéré (triangle).

C : Un nodule de microgliocytes est observable à gauche de l'image (ovale noir). Un neurone dégénéré (triangle) est présent en haut à droite de l'image. Noter la présence de vacuoles blanches dans son cytoplasme et la présence d'un microgliocyte (flèche noire) juste à côté.

D : Un infiltrat périvasculaire est visible à gauche de l'image : des globules rouges sont visibles dans le vaisseau (étoile) et des cellules immunitaires (flèche blanche) sont situées autour. De nombreuses images de satellitose (flèche noire pleine) sont observées dans la substance blanche : elles sont anormales par leur nombre et par le nombre de cellules gliales satellites. Sur l'image de satellitose du haut, un microgliocyte se trouve au côté du corps cellulaire neuronal également.

1.3. Biopsie de gyrus denté

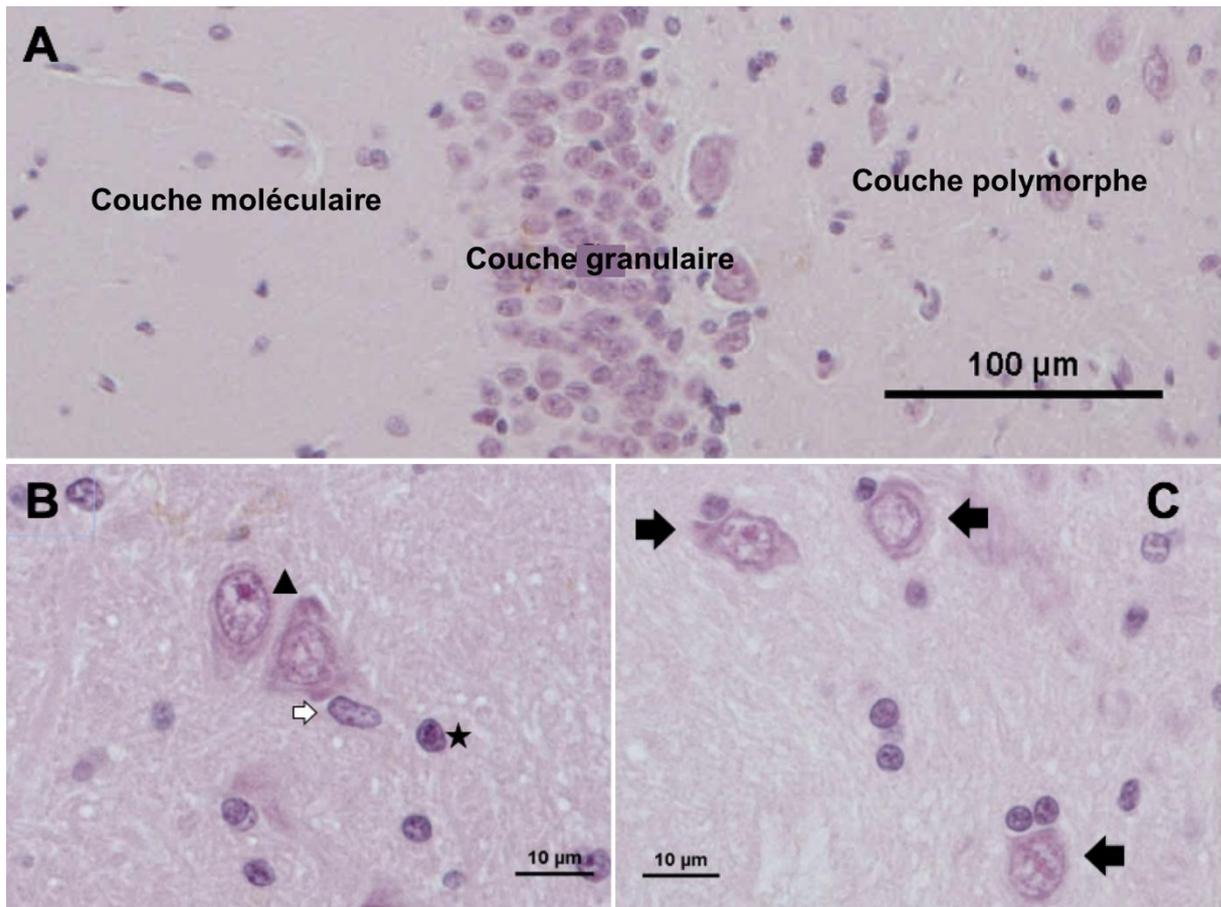


Figure 41 : Aspect histologique de gyrus denté (Encéphale fixé)

A : Aspect à faible grossissement (HE ; X50). Le gyrus denté est reconnaissable par sa couche de petits neurones (couche granulaire) encadrée par strates composée majoritairement de neuropile avec quelques neurones : la couche moléculaire et la couche polymorphe.

B et C : Aspect à fort grossissement dans le gyrus denté (HE ; X100).

B : Trois populations cellulaires apparaissent de façon caractéristique : deux neurones au centre de l'image (triangle) sont reconnaissables par leur gros noyau à la chromatine peu condensée, avec un nucléole bien visible pour l'un. La flèche blanche indique un astrocyte protoplasmique sous la forme d'un noyau ovale. Les oligodendrocytes apparaissent sous la forme d'un noyau plus petit, dense (étoile). Le cytoplasme des cellules gliales n'est pas visible sur ce type de préparation.

C : Trois images de satellitose (flèches noires) : des oligodendrocytes satellites se situent accolés aux corps cellulaires neuronaux.

1.4. Biopsie de plexus choroïde

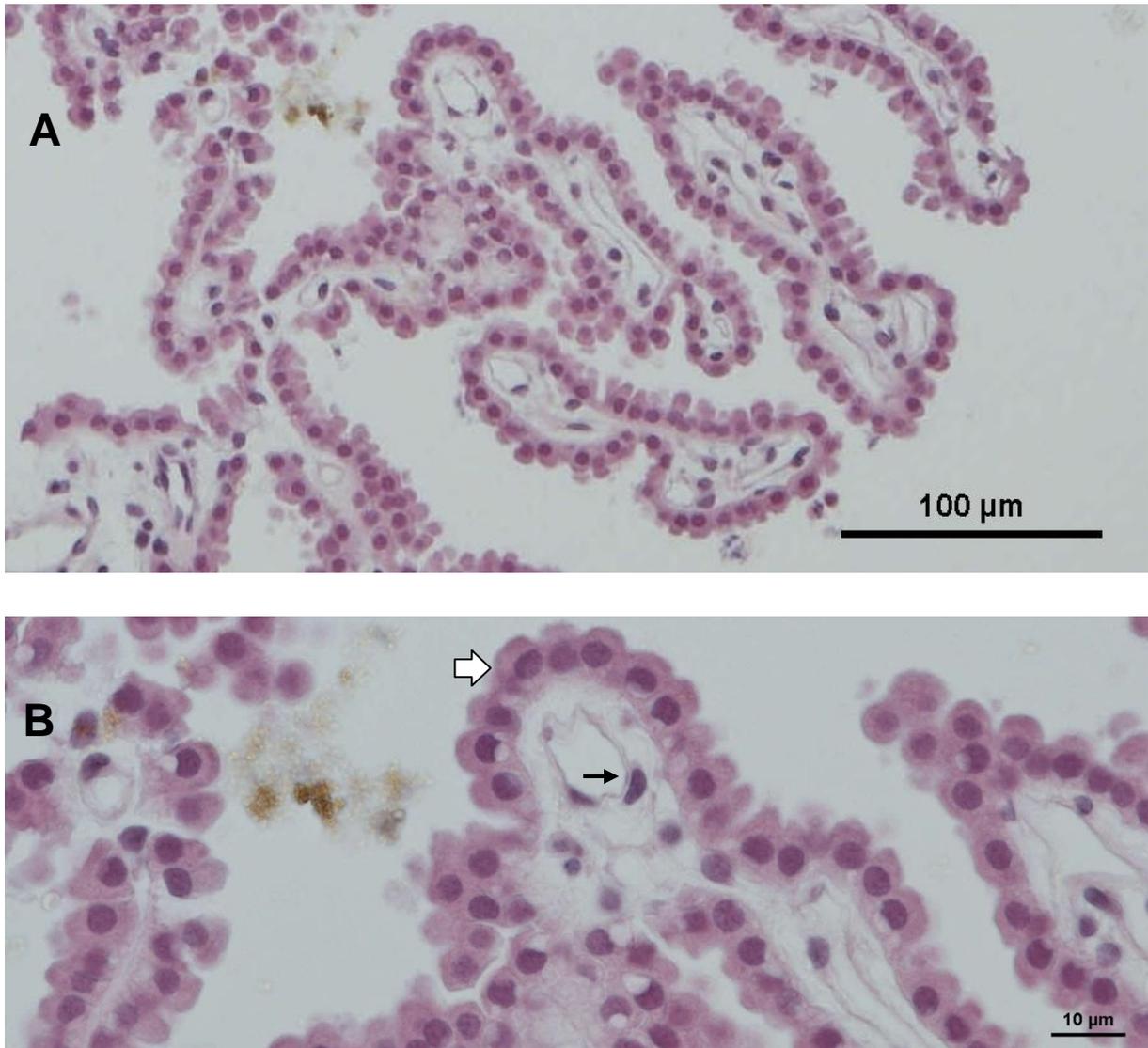


Figure 42: Aspect histologique d'un plexus choroïde (Encéphale fixé)

A : Aspect à faible grossissement (HE ; X50) d'un plexus choroïde

B : Aspect à fort grossissement (HE ; X100). Le plexus choroïde est formé par d'une couche unique d'épendymocytes spécialisés (flèche blanche) et par des vaisseaux sanguins (la flèche fine noire indique une cellule endothéliale).

2. Examen microscopique des cytoponctions

Les lames obtenues par la technique de carottage sont acellulaires. Les lames obtenues par la technique d'aspiration sont riches et de bonne qualité. Elles permettent de reconnaître les différentes populations cellulaires du tissu nerveux, et témoignent de leur activité (images de satellitose et de phagocytose).

Les caractéristiques morphologiques des cellules nerveuses et gliales sont détaillées dans les figures 43 à 46.

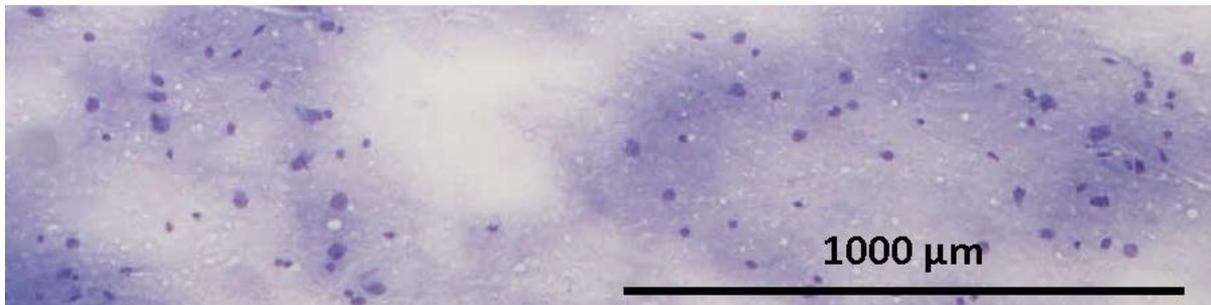


Figure 43 : Examen microscopique à faible grossissement (MGG ; X 20)

Le prélèvement est riche en cellules. Le neuropile correspond aux prolongements cellulaires indifférenciés qui constituent le fond basophile.

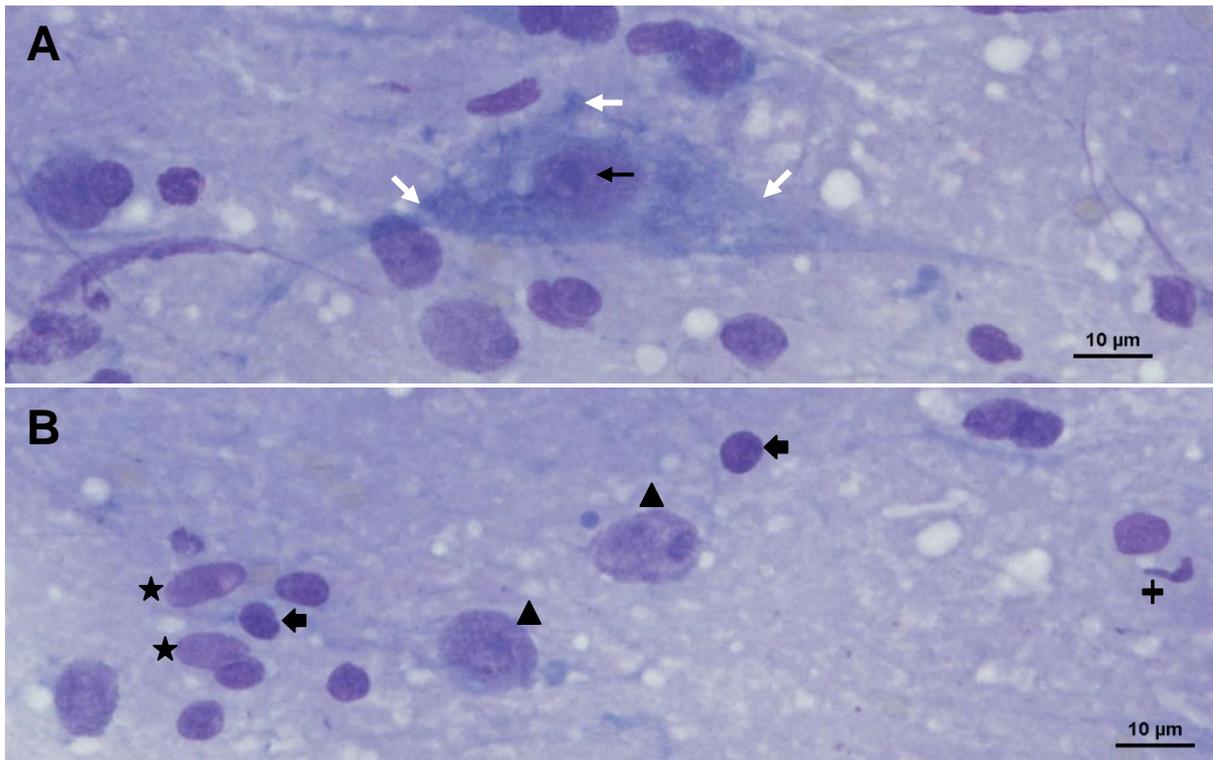


Figure 44 : Aspect cytologique neuronal et glial

A et B : Aspect à fort grossissement (MGG ; X 100)

A : Un neurone de grande taille est au centre de l'image. Il possède un gros noyau central contenant un nucléole distinct (flèche noire). Le cytoplasme est bien visible, tout comme le départ des prolongements neuronaux (flèches blanches).

B : Deux petits neurones (triangle) sont au centre de l'image. Ils sont reconnaissables par leur noyau caractéristique (chromatine décondensée, nucléole distinct) malgré l'absence de cytoplasme. Des cellules gliales apparaissent également : des astrocytes (étoiles) dont le noyau est ovale ; des oligodendrocytes (flèches noires pleines) dont le noyau est plus petit, rond et dense ; un microgliaocyte (croix) au noyau en forme de virgule. Le cytoplasme et les prolongements des cellules gliales ne sont pas visibles sur ce type de préparation.

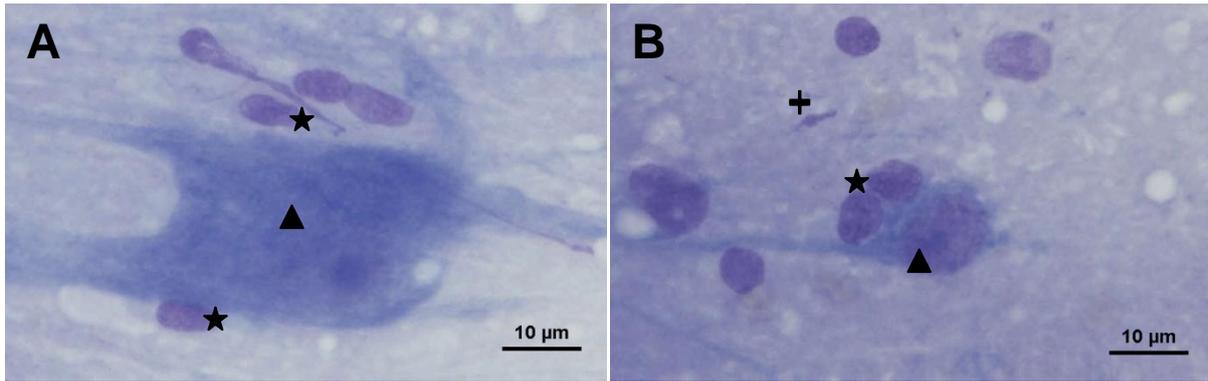


Figure 45 : Satellitose (MGG ; X100)

Un corps neuronal (triangle) est entouré par des astrocytes (étoiles). Un microgliocyte (croix) est également présent.



Figure 46 : Microgliocyte spumeux (MGG ; X 100)

Un microgliocyte activé (croix) est situé le long d'un vaisseau (flèche noire). Ses modifications morphologiques témoignent de son activité phagocytaire déclenchée : son noyau a augmenté en taille, son cytoplasme est visible, rempli de vacuoles claires.

IV. Discussion

Le présent travail est une contribution à l'utilisation du modèle animal spontané canin de gliomes diffus pour l'évaluation de nouvelles stratégies destinées au traitement de ces tumeurs chez l'Homme. L'objectif de ce travail s'inscrit dans les premières étapes de mise en place des outils diagnostiques nécessaires au recrutement des patients canins. Il constitue l'une des étapes d'un projet visant à utiliser l'échographie pour guider les biopsies et cytoponctions de tumeurs cérébrales chez le Chien. **En particulier, il s'agit d'évaluer ici la faisabilité de prélèvements histologiques et cytologiques échoguidés d'encéphale de chien sain en appréciant la qualité du matériel tissulaire et cellulaire obtenu.**

Pour notre étude de faisabilité, les premières étapes de mise en place des outils diagnostiques doivent être réalisées sur des **chiens sains** car la connaissance de l'aspect cytologique et histologique normal de l'encéphale est un préalable important à l'établissement d'un diagnostic exact (De Lorenzi, Mandara 2010). La maîtrise de l'exploration échographique et du geste technique de prélèvements ont été réalisés sur cadavre. Deux protocoles différents de préparation des cadavres ont été utilisés : dans un premier temps, les biopsies ont été réalisées sur un cadavre dont l'encéphale a été fixé par du formaldéhyde pour s'affranchir des risques d'autolyse rapide du tissu nerveux après la mort. Dans un deuxième temps, les prélèvements ont été réalisés sans fixation préalable des tissus, afin de se rapprocher le plus possible des conditions per-opératoires (la consistance du tissu nerveux est modifiée par une fixation de l'encéphale) et pour pouvoir réaliser à la fois des biopsies et des cytoponctions (non réalisables sur un encéphale fixé avec une solution de formaldéhyde, Meyer et al. 2015).

Les préparations histologiques des biopsies sont de bonne qualité, permettant de **reconnaître les différentes populations cellulaires du tissu nerveux sain (neurones, astrocytes, oligodendrocytes, microgliocytes, épendymocytes)** et de **reconnaître la structure cérébrale prélevée (cervelet, gyrus denté, substance blanche, plexus choroïde).**

Le neuropile est bien présent sur toutes les préparations issues de la substance grise, il est éosinophile, conformément aux données de la littérature (Young et al. 2010).

Les neurones sont identifiés : des neurones de grande taille et de taille intermédiaire (cellules de Purkinje et neurones de la couche polymorphe du gyrus denté) et des petits neurones (couches granulaires). Ainsi que l'a décrit *Robert H. Garman* (Garman 2011), les neurones intermédiaires et grands possèdent un cytoplasme granuleux visible qui n'apparaît pas pour les petits neurones, uniquement reconnu par les caractéristiques de leur noyau : basophilie et nucléole visible.

Toutes les populations gliales sont reconnues sur les différentes préparations où elles apparaissent uniquement par l'intermédiaire de leur noyau, leur cytoplasme étant peu visible avec les colorations conventionnelles. Les caractéristiques qui permettent de les reconnaître sont celles décrites dans la littérature (Young et al. 2010; Zachary 2012; Jubb et al. 2015; Garman 2011). Dans la substance grise des astrocytes protoplasmiques sont retrouvés à proximité des corps cellulaires neuronaux et sont reconnus grâce à leur noyau nu, de forme ovale, à la chromatine pâle et granulaire. Les oligodendrocytes sont observés dans la substance grise (dispersés et dans des figures normales de satellitose) et dans la substance blanche où ils sont alignés en nombre le long des

faisceaux de fibres. Ils sont reconnus grâce à leur petit noyau rond et dense. Les microgliocytes sont reconnus dans la substance blanche par la forme cunéiforme de leur noyau.

Des lésions élémentaires sont observées sur certaines des lames d'histologie. Des figures de satellitose sont interprétées comme anormales par le nombre de figures présentes sur un même champ et par le nombre de cellules satellites (Garman 2011). Il est noté de la microgliose (nombre important de microgliocytes). Un nodule de microgliocytes est par ailleurs observé. *Jubb et al.* utilisent le terme de « nodule neuronophagique » pour décrire cette figure observée en cas de nécrose neuronale. Des infiltrats mononucléés autour des vaisseaux sanguins sont aussi observés.

Les préparations cytologiques sont (i) acellulaires lorsque réalisées par une technique de carottage ; (ii) riches et permettant la **reconnaissance cellulaire** lorsqu'elles sont réalisées par une technique d'aspiration. La deuxième technique est décrite dans la littérature, en médecine humaine (Silverman et al. 1986) comme en médecine vétérinaire (Platt et al. 2002). La technique par carottage n'a pas été décrite pour le tissu nerveux. Les résultats du présent travail nous confirment que la technique par aspiration est la technique de cytoponction adaptée pour le tissu nerveux.

La littérature concernant l'aspect cytologique normal du tissu nerveux est très pauvre. Les résultats de la présente étude sont ainsi discutés en regard des éléments concordant avec ceux décrits par *De Lorenzi et Mandara* en 2010.

La bonne qualité des lames cytologiques est justifiée par la mise en évidence d'un **neuropile** basophile spumeux bien visible. Concernant les différents éléments figurés, les éléments de reconnaissance sont identiques à ceux décrits en histologie. Les **corps cellulaires neuronaux** sont reconnus par l'aspect caractéristique de leur noyau (basophile, avec un nucléole bien visible), avec présence d'un cytoplasme granulaire dans les grands neurones, absent dans les petits neurones. Les **astrocytes** sont reconnus par leur noyau arrondi nu, plus gros que les **noyaux oligodendrocytaires**, qui sont pour leur part ronds. Les **microgliocytes** apparaissent sous la forme d'un noyau cunéiforme. Des figures de satellitose sont observées ainsi que des microgliocytes spumeux (vacuole blanche de phagocytose dans le cytoplasme devenu visible).

L'identification de la zone prélevée n'est pas réalisable lors d'un examen cytologique.

Le premier volet du projet dans lequel s'inscrit cette étude a fait l'objet d'une thèse d'exercice vétérinaire intitulée « Etude de faisabilité de l'échographie cérébrale chez le chien adulte sain pour une investigation des tumeurs cérébrales » (Gervais 2017). Cette thèse a permis de démontrer que l'examen échographique de l'encéphale après craniotomie permettait effectivement d'identifier les principales structures de l'encéphale chez le Chien.

Les bons résultats obtenus ici nous permettent de valider le second volet de ce projet : les biopsies et cytoponctions échoguidées sont de bonne qualité car elles permettent de reconnaître les différents éléments du tissu nerveux, conformément aux données de la littérature, ainsi que d'identifier quelques lésions élémentaires présentes dans le tissu nerveux. Ces bons résultats laissent supposer que les modifications histologiques et cytologiques décrites lors de gliomes diffus pourront être identifiées lors de biopsies et de cytoponctions échoguidées de tumeurs cérébrales chez le Chien. D'autre part, ils contribuent à illustrer l'aspect histologique et cytologique du tissu nerveux sain.

CONCLUSION

A travers de cette étude, nous avons pu valider les premières étapes d'un projet visant à utiliser l'échographie pour guider les biopsies et cytoponctions de tumeurs cérébrales chez le Chien.

La partie bibliographique nous a permis de démontrer la nécessité du recours à ces examens complémentaires pour l'exploration d'une masse intracrânienne : l'imagerie médicale apporte des informations essentielles mais ne peut se passer des informations apportées par les examens complémentaires microscopiques. Ces examens sont peu développés dans l'espèce canine et nécessite un niveau de connaissance du tissu nerveux sain élevé. Nous avons pu mettre en place les éléments de base nécessaires à la compréhension de l'organisation cellulaire, tissulaire et anatomofonctionnelle de l'encéphale. Les cellules nerveuses sont réparties en deux familles : les neurones sont le support fonctionnel du message nerveux ; les cellules gliales occupent l'espace entre les neurones et ont une fonction de soutien. Elles sont représentées par les astrocytes, les oligodendrocytes, les épendymocytes, les cellules des plexus choroïde et les microgliocytes. Ces différentes cellules s'organisent en deux tissus, la substance grise et la substance blanche, qui se répartissent en zones fonctionnelles interconnectées et forment les différentes structures anatomiques de l'encéphale.

L'abord de l'encéphale nécessite la réalisation d'une fenêtre osseuse, par craniotomie ou trépanation. Les techniques de prélèvements par biopsies stéréotaxiques sont très utilisées en médecine humaine (guidage tomodensimétrique ou IRM). Elles ont été adaptées à l'utilisation chez le Chien mais leur utilisation présente des limites techniques (variabilité du crâne dans l'espèce canine) et financières. Les prélèvements par guidage échographique apparaissent comme une technique adaptative, sûre et abordable pour une utilisation chez le Chien. L'aspect histologique à l'hémalum-éosine et l'aspect cytologique au May-Grunwald-Giemsa du tissu nerveux sain sont décrits selon les données de la littérature. Dans l'un comme dans l'autre, on retrouve un fond constitué d'expansions cellulaires, le neuropile, sur lequel figurent des éléments figurés : corps cellulaires neuronaux, noyaux des cellules gliales. Sur un examen histologique, la composition et la répartition des différentes cellules permettent de reconnaître la structure encéphalique observée. De plus, des lésions élémentaires, telles que la nécrose neuronale ou l'astroglie sont mises en évidence. D'autres types de colorations et préparations permettent de mettre en évidence des éléments cellulaires particuliers et sont utiles dans le diagnostic de certains processus pathologiques.

Le Chien est un modèle spontané de gliomes diffus. Ce type de tumeurs est associé à un mauvais pronostic chez l'Homme. L'utilisation du Chien comme modèle d'étude implique la mise en place d'analyses histologiques et cytologiques pour l'établissement du diagnostic. L'aspect histologique des gliomes diffus est décrit dans la littérature et ressemble fortement aux gliomes diffus humains. Quelques éléments de l'aspect cytologique des gliomes diffus chez le Chien sont également donnés mais la littérature reste pauvre à ce sujet. De plus, la première étape indispensable au recrutement et à la prise en charge de patients canins est la mise en place des outils d'imagerie médicale et microscopiques chez le Chien sain.

Dans la partie expérimentale, nous avons pu établir la bonne qualité du matériel tissulaire et cellulaire issu de biopsies et cytoponctions échoguidées d'encéphale de chien. La reconnaissance des

éléments cellulaires (différentes morphologies neuronales et cellules gliales) et du neuropile est permise, tout comme la localisation au sein de l'encéphale des prélèvements histologiques, ainsi que l'identification de quelques lésions élémentaires.

Ces résultats sont encourageants car ils laissent supposer que les modifications histologiques et cytologiques décrits lors de gliomes diffus pourront être identifiées lors de biopsies et de cytoponctions échoguidées de tumeurs cérébrales chez le Chien. Les outils échographiques, histologiques et cytologiques ainsi établis devront ensuite être validés sur des chiens atteints de gliomes.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire

Je soussignée, **Alexandra DEVIERS**, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **Justine FABIAU** intitulée «Analyse histologique et cytologique de prélèvements cérébraux échoguidés : Etude préliminaire chez le chien sain » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

Fait à Toulouse, le 3 octobre 2018
Docteur **Alexandra DEVIERS**
Maître de Conférences
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse



Vu :
La Directrice de l'Ecole Nationale
Vétérinaire de Toulouse
Isabelle CHMITELIN

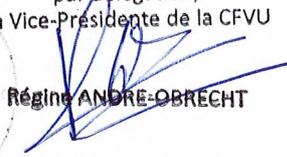


Vu : 17/10/18
Le Président du jury :
Professeur **Isabelle BERRY**

Faculté de Médecine Ranguel
Biophysique Médicale - CHU Rangueil
1, avenue Jean Poulhès - TSA 50032
31059 TOULOUSE Cedex

Mlle **Justine FABIAU**
a été admis(e) sur concours en : 2012
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le : 04/07/2017
a validé son année d'approfondissement le : 18/07/2018
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

Vu et autorisation de l'impression :
Président de l'Université
Paul Sabatier
Monsieur **Jean-Pierre VINEL**

Le Président de l'Université Paul Sabatier
par délégation,
La Vice-Présidente de la CFVU

Régine ANDRE-OBRECHT



BIBLIOGRAPHIE :

ALVAREZ-BUYLLA, Arturo et GARCIA-VERDUGO, Jose Manuel, 2002. Neurogenesis in adult subventricular zone. *Journal of Neuroscience*. 2002. Vol. 22, n° 3, pp. 629–634.

BARONE, Robert et BORTOLAMI, Ruggero, 2004. *Anatomie comparée des mammifères domestiques: système nerveux central*. Paris : Vigot frères. ISBN 978-2-7114-8194-1.

BARONE, Robert, 2010. Os du crâne. In : *Anatomie comparée des mammifères domestiques: ostéologie*. Cinquième édition, revue et mise à jour. Paris : Vigot frères. pp. 79–141. ISBN 978-2-7114-9160-5.

BENTLEY, R.T., OBER, C.P., ANDERSON, K.L., FEENEY, D.A., NAUGHTON, J.F., OHLFEST, J.R., O’SULLIVAN, M.G., MILLER, M.A., CONSTABLE, P.D. et PLUHAR, G.E., 2013. Canine intracranial gliomas: Relationship between magnetic resonance imaging criteria and tumor type and grade. *The Veterinary Journal*. 2013. Vol. 198, n° 2, pp. 463–471.

BERGER, Mitchel S., 1986. Ultrasound-guided stereotaxic biopsy using a new apparatus. *Journal of Neurosurgery*. 1986. Vol. 65, n° 4, pp. 550-554.

BERTRAND, C, 2012. *La genèse et la propagation du message nerveux à l’échelle du neurone*. 2012. Cours BCPST 2ème année.

BOJRAB, M. Joseph (éd.), 1998. Surgical Approaches and Techniques in the Management of Brain Tumors. In : *Current techniques in small animal surgery*. 4. ed. Baltimore, Md. : Williams & Wilkins. pp. 82-89. ISBN 978-0-683-00890-6.

COFFEY, Robert J. et LUNSFORD, L. Dade, 1987. Animal research stereotactic instrument modified for computed tomographic guidance. *Stereotactic and Functional Neurosurgery*. 1987. Vol. 50, pp. 81–86.

DE LAHUNTA, Alexander, GLASS, Eric et KENT, Marc, 2016. Embryonic Development of the Central Nervous System. *Vet Clin Small Animal* 46. 2016. pp. 193–216.

DE LORENZI, Davide et MANDARA, Maria T., 2010. The central nervous system. In : *Canine and Feline Cytology (Second Edition)*. Elsevier. pp. 325–365. ISBN 978-1-4557-5495-3.

DE LORENZI, Davide, MANDARA, Maria Teresa, TRANQUILLO, Massimo, BARONI, Massimo, GASPARINETTI, Nicola, GANDINI, Gualtiero, MASSERDOTTI, Carlo, BONFANTI, Ugo, BERTOLINI, Giovanna, VIAN, Patrizia et BERNARDINI, Marco, 2006. Squash–prep cytology in the diagnosis of canine and feline nervous system lesions: a study of 42 cases. *Veterinary Clinical Pathology*. 2006. Vol. 35, n° 2, pp. 208-214.

DYCE, K. M. Keith M., 1987. *Textbook of veterinary anatomy*. Philadelphia : Saunders. ISBN 978-0-7216-1332-1.

EVANS E, LAHUNTA A, 2013. *Miller's anatomy of the dog*. Fourth edition. St Louis : Elsevier Saunders. ISBN 978-1-4377-0812-7.

FERNÁNDEZ, Francisco, DEVIERS, Alexandra, DALLY, Claire, MOGICATO, Giovanni, DELVERDIER, Maxence, CAUZINILLE, Laurent, GNIRS, Kirsten, AÑOR, Sònia, DE LA FUENTE, Cristian, FONDEVILA, Dolors et PUMAROLA, Martí, 2016. Presence of neural progenitors in spontaneous canine gliomas: A histopathological and immunohistochemical study of 20 cases. *The Veterinary Journal*. 2016. Vol. 209, pp. 125–132.

GARMAN, Robert H., 2011. Histology of the Central Nervous System. *Toxicologic Pathology*. 2011. Vol. 39, n° 1, pp. 22–35.

GERVAIS, Chloé, 2017. *Étude de la faisabilité de l'échographie cérébrale chez le chien adulte sain pour une investigation des tumeurs cérébrales / Chloé Gervais ; sous la direction de Giovanni Mogenicato*.

GOULD, Elizabeth, 2007. How widespread is adult neurogenesis in mammals? *Nature Reviews Neuroscience*. 2007. Vol. 8, n° 6, pp. 8.

JUBB, K. V. F., KENNEDY, Peter Carleton, PALMER, Nigel et GRANT, Maxie, 2015. Cytopathology of nervous tissue. In : *Jubb Kennedy and Palmer's Pathology of domestic animals*. Elsevier. 16 p. ISBN 978-0-7020-5322-1.

KOBLIK, Philip D., LECOUTEUR, Richard A., HIGGINS, Robert J., FICK, James, KORTZ, Gregg D., STURGES, Beverly K. et PASCOE, Peter J., 1999. Modification and application of a Pelorus Mark III stereotactic system for CT-guided brain biopsy in 50 dogs. *Veterinary Radiology & Ultrasound*. 1999. Vol. 40, n° 5, pp. 424–433.

KOESTNER, A., BILZER, T., FATZER, R., SCHULMAN, F.Y., SUMMERS, B.A., VAN WINKLE, T.J., 1999. *Histological Classification of Tumors of the Nervous System of Domestic Animals*, vol. 5, Second Ed. Armed Forces Institute of Pathology, Washington, DC.

LAYSSOL-LAMOUR, Catherine, 2014. *La cytoponction échoguidée : qualité cytologique et risque hémostatique (et autres risques)*. 24 mai 2014. Journée d'Actualités en Biologie Médicale du chien et du chat.

LONG, Sam N., ANDERSON, T. James, LONG, Fenella HA et JOHNSTON, Pamela EJ, 2002. Evaluation of rapid staining techniques for cytologic diagnosis of intracranial lesions. *American journal of veterinary research*. 2002. Vol. 63, n° 3, pp. 381–386.

LOUIS, David N., OHGAKI, Hiroko, WIESTLER, Otmar D., CAVENEE, Webster K., BURGER, Peter C., JOUVET, Anne, SCHEITHAUER, Bernd W. et KLEIHUES, Paul, 2007. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. *Acta neuropathologica*. 2007. Vol. 114, n° 2, pp. 97–109.

LOUIS, David N., OHGAKI, Hiroko, WIESTLER, Otmar D. et CAVENEE, Webster K., 2007. *WHO classification of tumours of the central nervous system*. 4th. WHO Regional Office Europe. ISBN 978-92-832-2430-2.

LOUIS, David N., PERRY, Arie, REIFENBERGER, Guido, VON DEIMLING, Andreas, FIGARELLA-BRANGER, Dominique, CAVENEE, Webster K., OHGAKI, Hiroko, WIESTLER, Otmar D., KLEIHUES, Paul et ELLISON, David W., 2016. The 2016 World Health Organization classification of tumors of the central nervous system: a summary. *Acta neuropathologica*. 2016. Vol. 131, n° 6, pp. 803–820.

MEYER, Dennis J., CONNOLLY, Sara L., HENG, Hock Gan, RASKIN, Rose E., BURKHARD, Mary Jo, MILLWARD, Laurie M., REBAR, Alan H., THOMPSON, Craig A., ANDREASEN, Claire B. et JERGENS, Albert E., 2015. The acquisition and management of cytology specimens. In : *Atlas of Canine and Feline Cytology*. Philadelphia, PA USA: Saunders. pp. 1–13. ISBN 978-1-4557-5495-3.

MOISSONNIER, P., BLOT, S., DEVAUCHELLE, P., DELISLE, F., BEUVON, F., BOULHA, L., COLLE, M.-A. et LEFRANÇOIS, T., 2002. Stereotactic CT-guided brain biopsy in the dog. *Journal of small animal practice*. 2002. Vol. 43, n° 3, pp. 115–123.

MOISSONNIER, Pierre, BORDEAU, William, DEVAUCHELLE, Patrick, DELISLE, Françoise, BLOT, Stéphane et LEFRANÇOIS, Thierry, 1999. La biopsie des tumeurs de l'encéphale par stéréotaxie assistée par tomodensitométrie: mise au point d'un nouveau cadre et premières applications cliniques chez le chien. In : *Séance du jeudi 18 février 1999*. 1999.

NTP Non neoplastic lesion - brain necrosis

https://ntp.niehs.nih.gov/nnl/nervous/brain/necrosis/brain-necrosis_508.pdf.

PLATT, Simon R., ALLEMAN, A. Rick, LANZ, Otto I. et CHRISMAN, Cheryl L., 2002. Comparison of Fine-Needle Aspiration and Surgical-Tissue Biopsy in the Diagnosis of Canine Brain Tumors. *Veterinary Surgery*. 2002. Vol. 31, n° 1, pp. 65–69.

ROSSMEISL, John Henry, ANDRIANI, Rudy T., CECERE, Thomas E., LAHMERS, Kevin, LEROITH, Tanya, ZIMMERMAN, Kurt L., GIBO, Denise et DEBINSKI, Waldemar, 2015. Frame-Based Stereotactic Biopsy of Canine Brain Masses: Technique and Clinical Results in 26 Cases. *Frontiers in Veterinary Science*. 2015. Vol. 2, pp. 13.

SAUTET, J., 2014. *Le cervelet*. 2014. Cours ENVT.

SILVERMAN, Jan F., TIMMONS, Robert L., LEONARD III, John R., HARDY, Ira M., HARRIS, Lawrence S., O'BRIEN, Kevin et NORRIS, H. Thomas, 1986. Cytologic results of fine-needle aspiration biopsies of the central nervous system. *Cancer*. 1986. Vol. 58, n° 5, pp. 1117–1121.

SLATTER, Douglas H. (éd.), 1985. Intracranial Surgery. In : *Textbook of small animal surgery*. Philadelphia, Pa. : Saunders. pp. 1415-1429. ISBN 978-0-7216-8349-2.

SNYDER, Jessica M., SHOFER, Frances S., WINKLE, Thomas J. et MASSICOTTE, Christiane, 2006. Canine Intracranial Primary Neoplasia: 173 Cases (1986-2003). *Journal of Veterinary Internal Medicine*. mai 2006. Vol. 20, n° 3, pp. 669-675.

SONG, R.B., VITE, C.H., BRADLEY, C.W. et CROSS, J.R., 2013. Postmortem Evaluation of 435 Cases of Intracranial Neoplasia in Dogs and Relationship of Neoplasm with Breed, Age, and Body Weight. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2013. Vol. 27, n° 5, pp. 1143–1152.

STEVENS, Alan histologiste, 1993a. Le système nerveux. In : *Histologie*. Paris Saint-Hyacinthe : Pradel Edisem. pp. 206–225. ISBN 978-2-89130-141-1.

STEVENS, Alan histologiste, 1993b. La cellule. In : *Histologie*. Paris Saint-Hyacinthe : Pradel Edisem. pp. 7–25. ISBN 978-2-89130-141-1.

STOICA, G., KIM, H.-T., HALL, D. G. et COATES, J. R., 2004. Morphology, Immunohistochemistry, and Genetic Alterations in Dog Astrocytomas. *Veterinary Pathology*. 2004. Vol. 41, n° 1, pp. 10–19.

THOMAS, W. B., SORJONEN, D. C., HUDSON, J. A. et COX, N. R., 1993. Ultrasound-guided brain biopsy in dogs. *American journal of veterinary research*. novembre 1993. Vol. 54, n° 11, pp. 1942–1947.

UNSGAARD, Geirmund, GRONNINGSÆTER, Aage, OMMEDAL, Steinar et NAGELHUS HERNES, Toril A., 2002. Brain operations guided by real-time two-dimensional ultrasound: new possibilities as a result of improved image quality. *Neurosurgery*. 2002. Vol. 51, n° 2, pp. 402–412.

VERNAU, K. M., HIGGINS, R. J., BOLLEN, A. W., JIMENEZ, D. F., ANDERSON, J. V., KOBLIK, P. D. et LECOUTEUR, R. A., 2001. Primary canine and feline nervous system tumors: intraoperative diagnosis using the smear technique. *Veterinary Pathology*. 2001. Vol. 38, n° 1, pp. 47–57.

YOUNG, Barbara, LOWE, James S., STEVENS, Alan et HEATH, John W., 2010. Tissu nerveux et Système nerveux central. In : *Atlas d'histologie fonctionnelle de Weather*. de boeck. pp. 122–150 et 392–399.

ZACHARY, James F., 2012. *Pathologic basis of veterinary disease*. 5th edition. St. Louis : Elsevier Mosby. ISBN 978-0-323-07533-6.

Toulouse, 2018

NOM : FABIAU PRENOM : Justine

TITRE : ANALYSE HISTOLOGIQUE ET CYTOLOGIQUE DE PRELEVEMENTS CEREBRAUX ECHOGUIDES : ÉTUDE PRELIMINAIRE CHEZ LE CHIEN SAIN

Résumé : Les gliomes diffus chez l'Homme sont associés à un pronostic sombre malgré un traitement multimodal. Le chien est atteint spontanément de gliomes diffus et représente un modèle pertinent en médecine translationnelle pour l'évaluation de nouvelles stratégies destinées au traitement de ce groupe de tumeurs cérébrales chez l'Homme.

La première étape de recherche est l'étape diagnostique, pour le recrutement de chiens atteints de gliomes. L'imagerie médicale permet de détecter une masse intracrânienne mais s'avère insuffisante pour établir un diagnostic de certitude. La mise au point d'une technique fiable, précise et adaptée à l'espèce canine pour la réalisation de biopsies et/ou cytoponctions est nécessaire. La connaissance de l'histologie et de la cytologie cérébrales chez le chien sain est un pré-requis indispensable. Cette étude de faisabilité a pour objectif d'évaluer la qualité du matériel tissulaire et cellulaire issu de biopsies et cytoponctions échoguidées chez le chien sain.

MOTS-CLES : CHIEN, ENCEPHALE, HISTOLOGIE, CYTOLOGIE, ECHOGUIDE

TITLE: HISTOLOGIC AND CYTOLOGIC EXAMINATION OF ULTRASOUND-GUIDED BRAIN SAMPLES: PRELIMINARY STUDY ON HEALTHY DOGS

Abstract: Human diffuse gliomas are associated with poor diagnosis despite a multimodal treatment. Spontaneously arising canine glioma is an appropriate model for their human counterpart and offers an opportunity to perform translational therapeutic trials.

The first step is to recruit bearing dogs in clinical trials. Brain lesions can be detected and localized with imaging techniques but these techniques can not provide a definitive diagnosis. A reliable, accurate technique which is adapted to canine medicine is needed to perform brain biopsy and fine-needle aspiration. First, normal nervous tissue histology and cytology need to be known. The aim of the study is the quality assessment of ultrasound-guided brain biopsy and fine-needle aspiration performed on healthy dogs.

KEY WORDS : DOG, BRAIN, HISTOLOGY, CYTOLOGY, ULTRASOUND-GUIDED