

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de L'enseignement Supérieur et de La Recherche Scientifique
Université SAAD DAHLAB BLIDA 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de master dans le domaine SNV
Filière Science Biologique

Option : Biologie Moléculaire et Cellulaire

Thème

***Etude de l'influence de la concentration du
formol sur la fixation des organes vitaux :
poumon, foie et reins***

Présenté par :

Mme Bknoune thinhinane et Mme Guendouli thanina

Soutenu le 14.07.2021

Devant le jury composé de :

Mme ZEROUTI K. Maitre de conférences B USDB1 Présidente

Mme ARKAME F. Maitre de Conférences B USDB1 Examinatrice

Mme SAADI L. Professeur USDB1 Promotrice

Promotion : 2020-2021

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, louange à « Allah » le tout généreux qui nous a guidé sur le droit chemin tout au long du travail et nous a inspiré. Sans sa miséricorde, ce travail n'aurait pas abouti.

Au terme de ce travail, nous tenons tout d'abord à remercier Madame Zerouti K., Maitre de Conférence B qui nous fait l'honneur de présider notre jury de mémoire fin d'étude, ainsi que Madame Arkame F., Maitre de Conférence B pour avoir accepté d'évaluer et examiné ce travail et pour l'attention qu'elles ont su y porter.

Nous désirons exprimer toute notre reconnaissance et remerciements à notre promotrice et le chef d'option Pr. Saadi L à l'université de Blida-1 qui a fait preuve d'une grande patience. Sa confiance, ses conseils ainsi que ses orientations nous ont permis de mener à terme ce projet.

Nous tenons à remercier Pr. Abdellali de nous avoir accueilli au niveau de son laboratoire de Cytologie à l'hôpital universitaire N'FFISSA HAMOUD à Hussein Day à Alger et de nous avoir permis de réaliser ce travail de recherche.

Un grand merci à Mme Kenza pour son bon accueil, de nous avoir transmis sa passion, son expérience et ses multiples connaissances des techniques de laboratoire et ses réponses à nos questions.

Nos chers remerciements s'adressent aussi à vous nos enseignants pour leur générosité et la grande patience dont ils ont su faire preuve pour nous former tout au long de notre cursus malgré leurs charges professionnelles et personnelles.

Nous remercions aussi nos chers parents, qui nous ont offert les outils nécessaires pour poursuivre nos études ainsi que le soutien indispensable à notre réussite. On est très fières d'avoir appris auprès de vous et nous espérons avoir été à la hauteur de vos attentes.

Un merci bien particulier à nos frères et sœurs, notre cher Saïd et nos chers enfants Léa, Elya, Enzo et Mohamed.

RESUME

La préparation des coupes histologiques se fait en plusieurs étapes dont la fixation est une étape cruciale pour préserver la structure et la composition moléculaire des tissus. Le Formol commercialisé, dilué à 10% est le fixateur le plus utilisé en laboratoire d'anatomie pathologie et de recherche suite à son rapport efficacité/cout. Cependant, certains chercheurs histologistes préfèrent utiliser d'autres concentrations du Formol ou carrément d'autres fixateurs. Dans ce cadre, la présente étude a pour objectif la comparaison entre les résultats de l'histologie de trois organes vitaux fixés dans deux concentrations différentes du Formol, 5% et 10% chez un modèle murin de souche Naval Medical Research Institute très utilisé en laboratoire.

Après sacrifices des souris, adultes mâles et femelles et la réalisation de la technique histologique sur les organes prélevés : poumons, foie et reins, l'observation microscopique à différents grossissement montre que la structure des trois tissus est préservée par le Formol et la bonne concentration du fixateur diffère selon le type du tissu. La structure du parenchyme hépatique est très nette avec le 5% en comparaison avec le 10%.

Ces résultats nous laissent suggérer que la concentration 10% n'est pas exclusive pour fixer tous les organes et l'histologiste doit instaurer une liste des concentrations du Formol selon les tissus à fixer.

Mots clés : Souris de souche Naval Medical Research Institute; Fixation ; Formol ; Concentration ; Histologie ; Tissus.

ABSTRACT

The preparation of histological sections is carried out in several steps, the fixation is the crucial step to preserve the structure and molecular composition of the tissues. The marketed Formalin, diluted at 10%, is the most widely used fixative in anatomy, pathology and research laboratories due to its efficacy / cost ratio. However, some histological researchers prefer to use other concentrations of formalin or squarely other fixatives. In this context, the objective of this study is to compare the results of the histology of three vital organs fixed in two different concentrations of formalin 5% and 10% in a mouse model of the Naval Medical Research Institute strain widely used in the laboratory.

After sacrifices of mice, adult males and females and the realization of the histological technic on the organs removed: lungs, livers and kidneys, the microscopic observation at different magnifications shows that the structure of the three tissues is preserved by formalin and the right concentration of the fixative differs depending on the type of tissue. The structure of the hepatic parenchyma is very clear with 5% in comparison with 10%.

These results allow us to suggest that the 10% concentration is not exclusive for fixing all the organs and the histologist must establish a list of formalin concentrations according to the tissues to be fixed.

Keywords: Naval Medical Research Institute strain mouse; Fixation; Formalin; Concentration; Histology; Tissue.

ملخص

يتم تجهيز المقاطع النسيجية في عدة خطوات، يعتبر التثبيت خطوة مهمة للحفاظ على البنية والتركيبية الجزيئية للأنسجة. الفورمالين المسوق، المخفف بنسبة 10٪، هو المثبت الأكثر استخدامًا في مختبرات التشريح وعلم الأمراض والأبحاث نظرًا لفعالته ونسبة التكلفة. ومع ذلك، يفضل بعض علماء الأنسجة استخدام تركيزات أخرى من الفورمالين أو البحث عن مثبتات أخرى تمامًا. في هذا السياق، الهدف من هذه الدراسة هو المقارنة بين نتائج الأنسجة لثلاثة أعضاء حيوية مثبتة بتركيزين مختلفين من الفورمالين 5٪ و 10٪ في نموذج فأر لسلالة Naval Medical Research Institute المستخدمة على نطاق واسع في المخبر.

بعد تضحيات الفئران البالغين منهم الذكور والإناث، وأداء التقنية النسيجية على الأعضاء المستأصلة: الرئتين والكبد والكلى، تظهر الملاحظة المجهرية بتكبيرات مختلفة أنه يتم الحفاظ على بنية الأنسجة الثلاثة بواسطة الفورمالين. ويظهر التركيز الجيد حسب نوع النسيج المثبت. بنية النسيج الكبدي تكون واضحة جدًا بالتركيز 5٪ مقارنة بـ 10٪. تسمح لنا هذه النتائج باقتراح أن تركيز 10٪ ليس حصريًا لتثبيت جميع الأعضاء ويجب على اختصاصي الأنسجة إنشاء قائمة بتركيزات الفورمالين وفقًا للأنسجة المراد تثبيتها.

Naval Medical Research Institute

الكلمات المفتاحية: التثبيت. الفورمالين. تركيز. علم الأنسجة. نسيج. فأر من سلالة

LISTE DES ABREVIATIONS

- A** : Alvéoles.
- Ah** : Artère hépatique.
- Ahl** : Anse de Henlé.
- Br** : Bronchiole respiratoire.
- Bt** : Bronchiole terminale.
- C** : Cytoplasme.
- Ca** : Capsule rénale.
- Cab** : Capsule de Bowman.
- Cal** : Canal alvéolaire.
- Cb** : Canalicule biliaire.
- Cc** : Cellules de Clara.
- Cg** : Chambre glomérulaire.
- Ch** : Chorion.
- Cl** : Cloison intralvéolaire.
- Cm** : Cellule mesangiale.
- Cs** : Capillaire sinusoïde.
- Cx** : Cortex.
- Ep** : Espace porte.
- Fp** : Feuillet pariétal.
- Fv** : Feuillet viscéral.
- G** : Glomérule rénal.
- H** : Hématies.
- Ht** : Hépatocyte.
- K** : Cellules de Kupffer.
- L** : Lumière.
- Leu** : Leucocytes.
- M** : Médulla.
- Mi** : Microvillosité.
- Ml** : muscle lisse.
- N** : Noyau.
- n** : nucléole.
- Ne** : Cellule endothéliale.

NMRI: Naval Medical Research Institute.

P : Podocytes.

P1 : Pneumocytes de type I.

P2 : Pneumocytes de type II.

Pn : Pneumocyte.

Pu : Pole urinaire.

Pv : Pole vasculaire.

Sa : Sac alvéolaire.

T : Travée hépatocytaire.

Tc : Tube collecteur.

Tcd : Tube contourné distal.

Tcp : Tube contourné proximal.

Tr : Tube rénal.

Vc : Veine centrolobulaire.

Vp : Veine porte.

Vs : Vaisseau sanguin.

:

LISTE DES TABLEAUX

Tableaux	Titre	page
Tableau I	Comparaison entre les systemes respiratoire humain et rongeur	6
Tableau II	Table pour la dilution de l'alcool (Table de Gay-Lussac) appelée aussi Table de mouillage de l'alcool	Annexe 1

LISTE DES FIGURES

Figure	Titre	page
Figure 1	Structure chimique du Formol	3
Figure 2	Anatomie du poumon chez la souris	5
Figure 3	Vascularisation sanguine et lymphatique du poumon chez l'Homme	7
Figure 4	Zone respiratoire de l'appareil respiratoire chez l'Homme (a) Structure des alvéoles chez le rat, la souris et l'Homme (b)	8
Figure 5	Morphologie externe du rein chez l'Homme	9
Figure 6	Vascularisation rénale chez l'Homme (a et b)	10
Figure 7	Structure du rein chez l'Homme	11
Figure 8	Structure du néphron chez l'Homme	12
Figure 9	Structure du corpuscule de Malpighi chez l'Homme	13
Figure 10	Anatomie du foie chez l'Homme	14
Figure 11	Vascularisation du foie	15
Figure 12	Structure du parenchyme hépatique	16
Figure 13	Répartition cellulaire dans le foie	16
Figure 14	Structure du parenchyme pulmonaire chez la souris blanches de souche NMRI (a et c : mâles ; b et d : femelles). Fixateur : formol 5% (a et b) ; 10 % (c et d) Coloration : Hématoxyline Eosine ; Grossissement : X100 ; Micrographie originale	23
Figure 15	Structure du parenchyme pulmonaire chez la souris blanche de souche NMRI (a et c mâles ; b et d femelles). Fixateur : formol 5% (a et b) ; 10 % (c et d) Coloration : Hématoxyline Eosine ; Grossissement : X400 ; Micrographie originale	24

Figure 16	Structure du parenchyme pulmonaire chez la souris blanche de souche NMRI (a et c mâles ; b et d femelles). Fixateur : formol 5% (a et b) ; 10 % (c et d) Coloration : Hématoxyline Eosine ; Grossissement : X1000 ; Micrographie originale	25
Figure 17	Structure du parenchyme rénale chez la souris blanche de souche NMRI (a et c mâles ; b et d femelles). Fixateur : formol 5% (a et b) ; 10 % (c et d) Coloration : Hématoxyline Eosine ; Grossissement : x100 ; Micrographie originale	27
Figure 18	Structure du parenchyme rénale chez la souris blanche de souche NMRI (a et c mâles ; b et d femelles) Fixateur : formol 5% (a et b) ; 10 % (c et d) Coloration : Hématoxyline Eosine ; Grossissement : x400 ; Micrographie originale	28
Figure 19	Structure du parenchyme rénale chez la souris blanche de souche NMRI (a et c mâles ; b et d femelles). Fixateur : formol 5% (a et b) ; 10 % (c et d) Coloration : Hématoxyline Eosine ; Grossissement : x1000 ; Micrographie originale	29
Figure 20	Structure du parenchyme hépatique chez la souris blanche de souche NMRI (a et c mâles ; b et d femelles). Fixateur : formol 5% (a et b) ; 10 % (c et d) Coloration : Hématoxyline Eosine. Grossissement : x 100. Micrographie originale	31

<p>Figure 21</p>	<p>Structure du parenchyme hépatique chez la souris blanches de souche NMRI (a et c mâles ; b et d femelles). Fixateur : formol 5% (a et b) ; 10 % (c et d) Coloration : Hématoxyline Eosine. Grossissement : x 400. Micrographie originale</p>	<p>32</p>
<p>Figure 22</p>	<p>Structure du parenchyme hépatique chez la souris blanche (a, b et d mâles ; c femelles) de souche NMRI fixées avec du formol (a et b : 5 % ; c et d : 10 %). Coloration : Hématoxyline Eosine. Grossissement : x1000. Micrographie originale.</p>	<p>33</p>

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
CHAPITRE I : RAPPELES BIBLIOGRAPHIQUES	
I.1 GENERALITES SUR LE FORMOL	3
I.1.1. Propriétés physicochimiques	3
I.1.2. Domaine d'application.....	3
I.1.3. Choix d'utilisation du Formol	3
I.2. ANATOMIE ET STRUCTURE DE CERTAINS ORGANES DES MAMMIFERES.	4
I.2.1. Anatomie du poumon	4
I.2.2. Structure du parenchyme pulmonaire.....	8
I.2.3. Anatomie du rein	9
I.2.4. Structure du parenchyme rénal	10
I.2.5. Anatomie du parenchyme hépatique	14
I.2.4. Structure du parenchyme hépatique	15
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES	
II.1 MATERIEL	18
II.1.1. Matériel biologique	18
II.1.2. Matériel non biologique	18
II.2. METHODES	18
II.2.1. Sacrifice et prélèvement des échantillons	19
II.2.2. Etude histologique.....	19
II.2.2.1. Fixation et rinçage	19
II.2.2.2. Déshydratation et éclairssicement.....	19
II.2.2.3. Inclusion et mise en bloc	20
II.2.2.4. Confection des coupes	20
II.2.2.5. Collage des rubans et séchage	20
II.2.2.6. Déparaffinage et réhydratation	20
II.2.2.7. Coloration	21
II.2.2.8. Montage et observation	21
CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION	
III.1. Structure du parenchyme pulmonaire.....	22

III.2. Structure du parenchyme rénal	26
III.3. Structure du parenchyme hépatique	30
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	34
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	35
ANNEXE	

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Le cursus universitaire est une première phase vers la recherche scientifique où les étudiants ont besoin d'un baguage théorique et pratique. Cependant, en tronc commun Sciences de la Nature et de la Vie, les étudiants rencontrent énormément de difficultés lors de la réalisation des travaux pratiques à cause du manque de matériel nécessaire notamment en matière d'histologie où les lames histologiques prêtes pour l'observation n'existent pas.

Auparavant, les laboratoires d'histologie étaient équipés par les lames histologiques prêtes systématiquement alors que maintenant cette opération est absente. Ce qui a laissé certains chercheurs s'en passer des lames prêtes en les confectionnant à partir des organes d'animaux de laboratoires. La confection passe par la technique histologique qui englobe plusieurs étapes dont la fixation est l'étape primordiale. La fixation est une méthode chimique permettant de conserver le tissu dans un état fixe, le plus proche possible de l'état physiologique en empêchant la digestion des tissus par les enzymes présentes dans les cellules (autolyse) ou par les bactéries (Janqueira et Carneiro., 2003). L'objectif principal de la fixation est de préserver le protoplasme par sa coagulation, le rendant insoluble ainsi que le durcissement du tissu afin que la section soit facile (Gurr, 1962 ;Leeson et Leeson., 1976).

Parmi plusieurs fixateurs, le Formol commercialisé, dilué à 10% est le fixateur de références en laboratoire d'anatomopathologie depuis plus d'un siècle (Décret no 2001-97 du 1er février 2001) suite à son apport efficacité/cout, son pouvoir de préservation des tissus, sa pénétration tissulaire rapide et son interaction rapide avec les molécules (Fox et *al.*, 1985).

Cependant, malgré ses effets néfastes tels que sa susceptibilité de développer l'asthme par ses effets irritants sur les voie aériennes, sa possibilité de développer des allergies cutanés qui se manifestant généralement par un eczéma et sa probabilité de causer de grave troubles physique pouvant aller jusqu'au développent de cancer en se fixant sur les protéines de la peau du manipulateur (Runge, 1993) ; le choix d'un nouveau fixateur est loin d'être facile pour plusieurs raisons. En effet, il convient de vérifier que le substitut proposé n'est pas aussi, voir plus dangereux que celui-ci et que son utilisation ne bouleverse pas les référentiels sur lesquels est fondé le diagnostic des maladies (Cogliano, 2005).

Dans ce contexte, plusieurs questions ont été posées.

- Le Formol dilué à 10% est le fixateur le plus utilisé en laboratoire d'histologie pour fixer les tissus. Est-il le meilleur fixateur pour tous les organes ?
- Est-il possible d'utiliser d'autres concentrations du même fixateur ?
- Peut-il trouver des concentrations bien déterminées pour chaque type de tissu ?

Afin de trouver une réponse à nos questions, nous avons tracé comme objectif, la recherche de l'effet de la fixation avec le formol à 5% sur la structure de trois organes vitaux des souris de laboratoire et le comparant avec ceux de la concentration 10%. L'animal de laboratoire choisi pour cette étude est les souris albinos de la souche Naval Medical Research Institute (NMRI). Ce choix revient à l'utilisation de cet animal dans plusieurs recherches qui se base sur l'étude histologique.

Notre travail comporte trois chapitres. Dans le premier, nous rapportons des rappels bibliographiques sur le Formol commercialisé et les organes étudiés. Nous décrivons le matériel et les techniques utilisés dans le deuxième chapitre. Les résultats obtenus sont rapportés et discutés dans le troisième chapitre. A la fin, une conclusion et des perspectives sont présentées.

CHAPITRE I :

RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

I.1. GENERALITES SUR LE FORMOL

Le formol est un composé organique de la famille des aldéhydes, de formule chimique CH₂O (figure 1), il est une solution aqueuses de formaldéhyde (Ramos-Vara, 2005 ; Plénat, 2006 ; Hewitt, 2008).

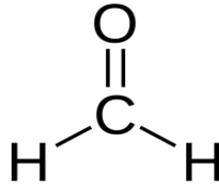


Figure 1 : Structure chimique du Formol (Ramos-Vara, 2005)

I.1.1. Propriétés physicochimiques

Le Formol est l'un des composés organiques les plus réactifs. C'est un liquide incolore, d'odeurs irritantes et corrosives. Il est commercialisé sous forme de solutions aqueuses à des concentrations de 30 à 55 % en poids contenant 37-38 % de formaldéhyde, 10-15 % de méthanol, 48-53 % d'eau (Bonnard et *al.*, 2006 ; Runge et *al.*, 1993).

I.1.2. Domaine d'application

Le formol est utilisé pour la conservation des cadavres, des pièces anatomiques et des plantes en préservant les organites cellulaires, les protéines et les acides nucléiques. Cependant le formol seul ne peut pas préserver les lipides, les glucides, les oligosaccharides et les glycoprotéines (Ramos-Vara, 2005 ; Plénat, 2006) c'est pour cela que divers tampons ont été ajoutés au formol afin de neutraliser le pH comme le carbonate de magnésium, le phosphate, le carbonate de calcium, le citrate (Hewitt, 2008).

I.1.3. Choix d'utilisation du Formol

Il est vrai que le formol présente une certaine toxicité, cependant, c'est le fixateur le plus disponible, le moins couteux, le plus économique et le plus efficace pour l'élimination des microorganismes présents au sein de certains tissus tel que les bactéricides et les virucides (Runge et *al.*, 1993). De plus ses conditions d'utilisation sont minimales. Tout cela facilite le travail des pathologistes.

Le choix de nouveaux fixateurs pour remplacer le formol est très difficile pour les pathologistes à l'heure actuelle car d'une part, ils sont très coûteux et d'autre part, ils ne sont pas validés pour plusieurs raisons :

- Ils ont une toxicité différente et inconnu par rapport au formol donc ils peuvent avoir des effets néfastes sur les soins des patients.
- L'utilisation non contrôlée de ces fixateurs conduit à des faux résultats donc elle entraîne des conséquences médico-légales pour le pathologiste.
- Ils sont trop chers et ne sont pas disponibles au niveau de tous les laboratoires.
- L'utilisation récente des nouveaux fixateurs ne permet pas de répondre avec certitude à plusieurs questions comme : l'antigénicité est-elle stable plusieurs années après la fixation ? Permet-il de faire d'autres examens : histochimiques, immunohistochimiques...après des années d'archivage ?
- Le remplacement du formol dans les laboratoires doit modifier le référentiel international et cela pourrait exclure les investigateurs (Hofman, 2009).

I.2. ANATOMIE ET STRUCTURE DE CERTAINS ORGANES DES MAMMIFERES

I.2.1. Anatomie du poumon

Les poumons (figure 2) sont situés dans la cavité thoracique de chaque côté du cœur et d'autres structures médiastinales (Kradin, 2017). Ils font parties de l'appareil respiratoire. Ce dernier est constitué de deux voies de conduction : La voie extra pulmonaire, constituée de fosses nasales, pharynx larynx, trachée ainsi que les bronches et la voie intra pulmonaire de petit diamètre composée de bronches, bronchioles et de bronchioles terminales. Ainsi qu'une zone respiratoire exclusivement intra pulmonaire (Gartner, 1997).

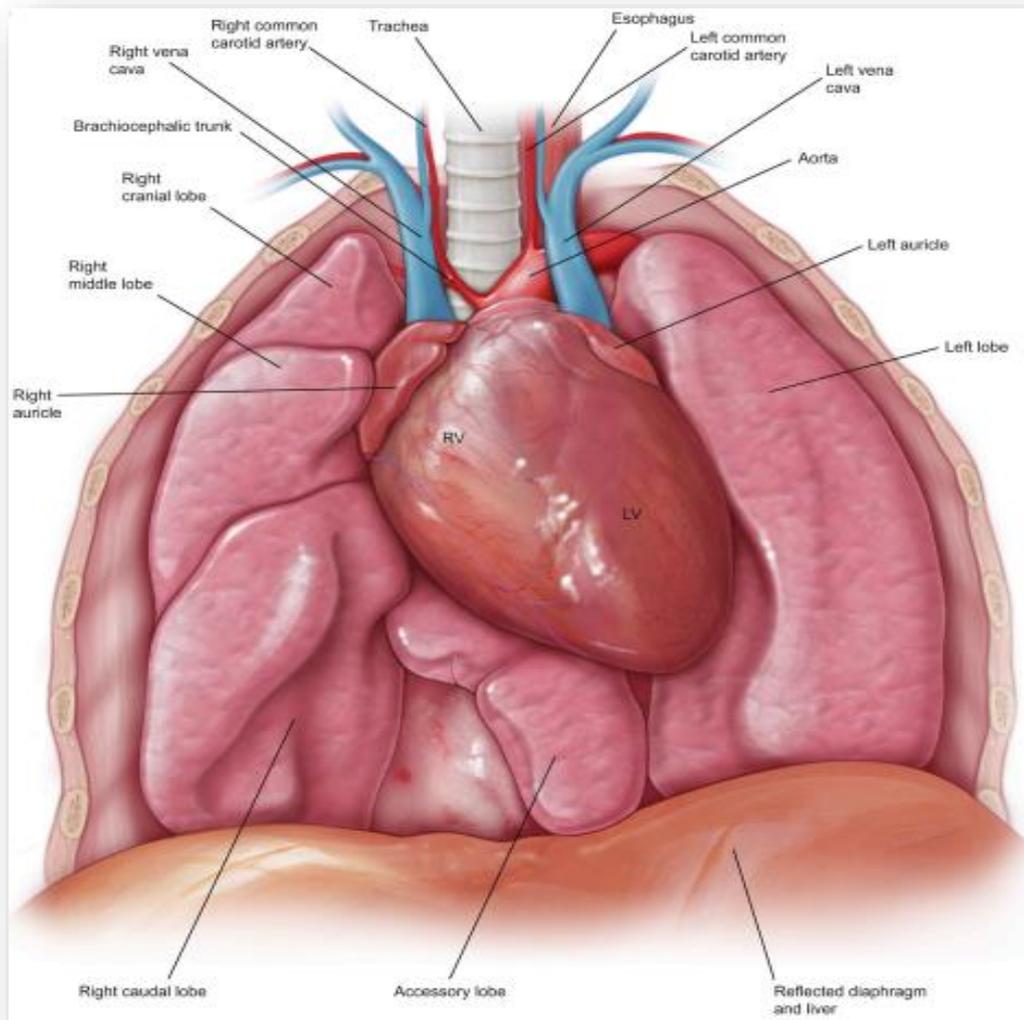


Figure 2 : Anatomie du poumon chez la souris (Meyerholz et *al.*, 2018).

Les poumons droit et gauche ont une anatomie similaire, bien qu'ils soient asymétriques. Chez l'homme, le poumon droit se compose de trois lobes : un lobe supérieur, un moyen et un inférieur. Cependant, le poumon gauche ne comprend que deux lobes : le lobe supérieur et le lobe inférieur. Chaque lobe est par la suite divisé en segments qui sont associés à des bronches spécifiques (Mack et *al.*, 2020). Chez la souris (figure 2 ; tableau I), le poumon droit se compose de quatre lobes : crânien, moyen, caudal et accessoire. Le poumon gauche n'a qu'un seul lobe (Meyerholz et *al.*, 2018).

Tableau I : comparaison entre les systèmes respiratoire humain et rongeur.
(Meyerholz et *al.*, 2018 ; modifié).

Fonctionnalité	Rongeurs	Homme
Anatomie		
Lobe pulmonaire Voie respiratoire cartilagineuse	Quatre à droite, un à gauche Trachée et bronche primaire (extra pulmonaire uniquement)	Trois à droite, deux à gauche. Trachée à travers les petites bronches intra segmentaires dans le poumon.
Histologie		
Bronchiole respiratoire Ramification des voies respiratoires	Absent à rare chez la souris s'il est présent, il est plus petit que celui des humains Chez le rat, absent au début de la vie, mais détectable environ 3 semaines après la naissance, aussi plus petit que celui des humains. Monopodiale.	Présente. Dichotomie.
Cellules épithéliales des voies respiratoires (nombre relatifs)		

Trachée.	Non cilié > cilié > basal l'épithélium est plus mince chez les souris que les rats ; à la fois plus mince que chez l'humain.	Cilié > basale > non cilié et muqueux. L'épithélium diminue de la trachée proximale en bronches.
Bronche primaire	Non cilié > cilié > basal	Cilié > non cilié > muqueux > basal. Cilié > non cilié.
Bronchiole terminale	Non cilié > cilié.	Cellules de type II > cellules de type I. les cellules sont mince mais elles ont un volume plus important que celle de type II.
Alvéoles	Chez le rat, cellule de type II > cellules de type I sont très minces, mais ont un volume cellulaire beaucoup plus important que les cellules de type II. les nombres relatifs de cellules ne sont pas bien définis chez la souris.	

La circulation fonctionnelle de chaque poumon (figure 3) est assurée par une grosse artère pulmonaire principale et par deux veines pulmonaires.

Le poumon est drainé par les plexus lymphatiques superficiels et profonds. L'innervation du poumon dérive de deux sources principales : le nerf phrénique provenant des racines nerveuses cervicales C3, 4 et 5 (Chaudhry et Bordoni., 2021).

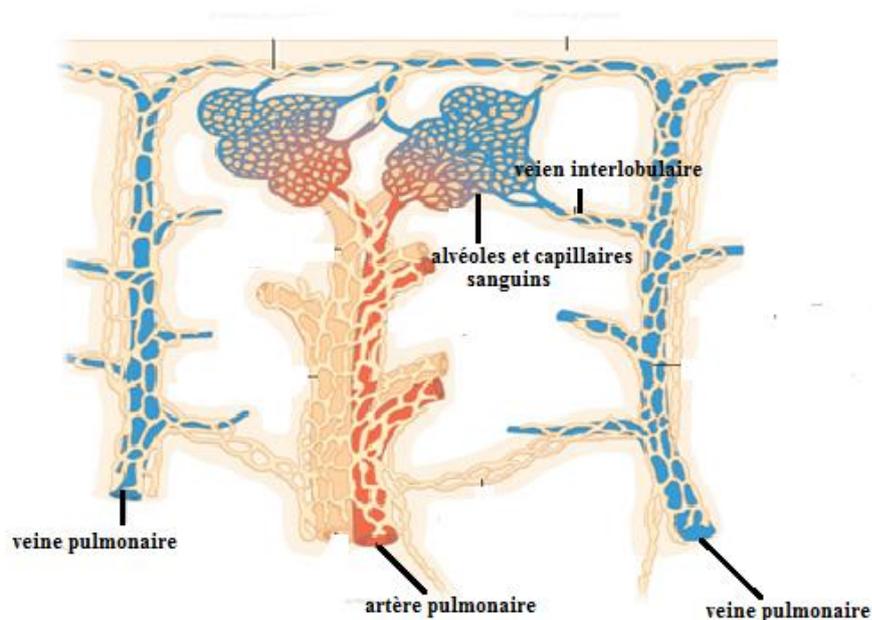


Figure 3 : Vascularisation sanguine et lymphatique du poumon chez l'Homme (Leslie, 2018 ; modifiée).

I.2.2. Structure du parenchyme pulmonaire

La zone respiratoire (figure 4a) correspond au parenchyme pulmonaire et comprend les bronchioles respiratoires, les canaux alvéolaires, les sacs alvéolaires et les alvéoles (Meyerholz et *al.*, 2018). Elle débute par des bronchioles respiratoires qui possèdent dans leur paroi des invaginations sous forme de poche nommées alvéoles dont les parois minces permettent les échanges gazeux (Gartner et *al.*, 1997).

A partir des bronchioles respiratoires, des canaux alvéolaires émergent. Ces derniers sont tapissés par un épithélium pavimenteux simple et se terminent au niveau des sacs alvéolaires constitués chacun d'alvéoles (Gartner et *al.*, 1997). Ces structures constituent le parenchyme pulmonaire (Mack et *al.*, 2020).

L'épithélium des sacs alvéolaires ainsi que celui des alvéoles (figure 4b) est constitué de deux types cellulaires : les pneumocytes de type I qui sont des cellules très aplatis qu'on trouve abondantes dans le sac alvéolaire et les alvéoles ainsi que les pneumocytes de type II, responsable de la sécrétion du surfactant. Les alvéoles sont séparés les uns des autres par des parois dites cloisons interalvéolaires. Des macrophages, cellules musculaires lisses et fibroblastes sont présents dans ces cloisons (Gartner et *al.*, 1997).

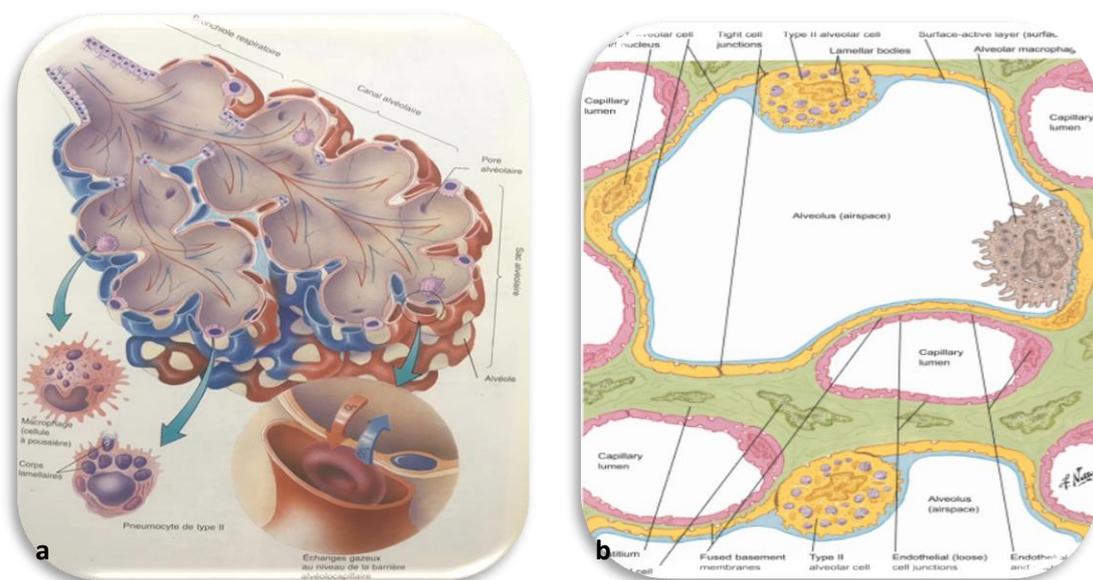


Figure 4 : Zone respiratoire de l'appareil respiratoire chez l'Homme (a) (Gartner et *al.*, 1997).

Structure des alvéoles chez le rat, la souris et l'Homme (b) (Meyerholz, 2018).

I.2.3. Anatomie du rein

Les reins sont des structures en forme d'haricot brun rougeâtre situées rétro péritonéale le long de la paroi abdominale postérieure. Ils s'étendent de la 12^e thoracique à la 3^e vertèbre lombaire. Le rein droit occupe une position légèrement inférieure en raison de sa relation avec le foie. Sur le pôle supérieur de chacun se trouve une glande surrénale. Le bord médial du rein (figure 5) est concave et contient une fissure verticale profonde, appelée hile, à travers laquelle entrent et sortent les vaisseaux et les nerfs rénaux et le bassin rénal (Gartner et *al.*, 1997 ; McBride et *al.*, 2016).

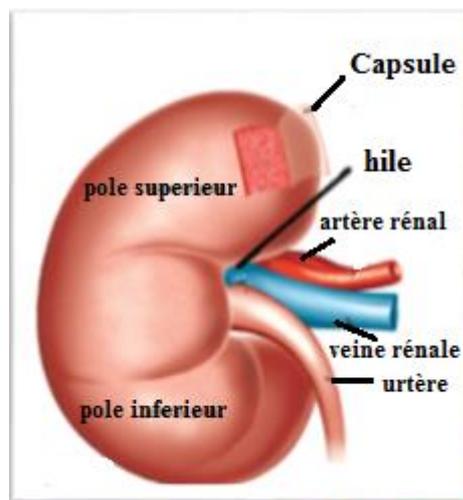


Figure 5 : Morphologie externe du rein chez l'Homme (Hallgrímsson et *al.*, 2003 ; modifiée).

Chaque rein est vascularisé par l'artère rénale (figure 6a) qui traverse le hile et se subdivise en plusieurs branches qui elles-mêmes se divisent en deux ou plusieurs artères interlobulaires. Ces dernières, progressent dans les colonnes de Bertin entre deux pyramides de Malpighi et pénètrent dans le labyrinthe pour atteindre la capsule rénale et donnent naissance à de plus petits vaisseaux, les artérioles afférentes glomérulaires (figure 6b) qui pénètrent dans la capsule de Bowman et se résolvent en peloton capillaire glomérulaires (Gartner et *al.*, 1997). Ces capillaires fusionnent pour former une artériole efférente glomérulaire, qui donne naissance à des réseaux capillaires, péri-tubulaires et vasa recta, entourant les néphrons. Généralement, le flux veineux dans le rein suit un cours inverse au flux artériel (Ross et Pawlina., 2015).

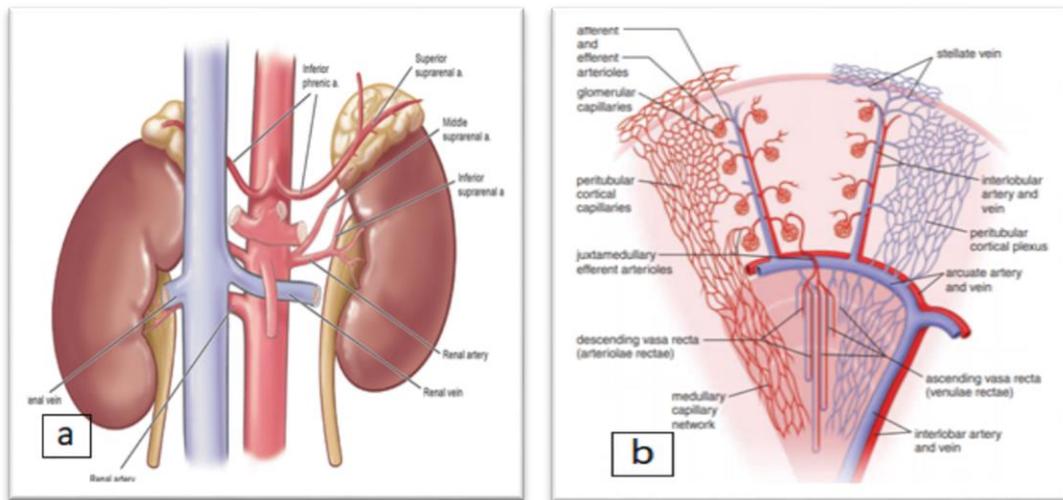


Figure 6 : (a et b) : Vascularisation rénale chez l'Homme (Ross et Pawlina., 2015 ; McBride et *al.*, 2016).

Les reins contiennent deux grands réseaux de vaisseaux lymphatiques. L'un des deux est situé dans les régions externes du cortex et se draine dans les plus gros vaisseaux lymphatiques de la capsule. L'autre s'enfonce plus profondément dans la substance du rein et se draine dans les gros vaisseaux lymphatiques du sinus rénal (Ross et Pawlina, 2015).

L'innervation du rein dérive du système nerveux sympathique provenant des niveaux T12 à L1 de la moelle épinière. Ces fibres forment un plexus rénal le long de la surface des artères rénales et reçoivent divers contribution (McBride et *al.*, 2016).

I.2.4. Structure du parenchyme rénal

Chaque rein est entouré d'une capsule de tissu conjonctif faiblement attaché à sa surface. La capsule comprend deux couches distinctes : une couche externe de fibroblastes et de fibres de collagène, et une couche interne de myofibroblastes (Ross et Pawlina, 2015).

Le rein est formé de deux parties distinctes (figure 7) : le cortex externe et la médulla interne, qui est divisé en 8 à 12 pyramides rénales. Un segment cortical s'étend dans la médulla entre deux pyramides de Malpighi pour former les colonnes de Bertin. Le cortex est constitué de corpuscules rénaux et de divers segments du système tubulaire, notamment les tubes contournés et droits du néphron, les tubes collecteurs et les canaux collecteurs. L'agrégation de tubules droits et de canaux collecteurs dans le cortex forme des rayons médullaires dit pyramides de Ferrein. Ces pyramides associées au tissu cortical qui les entourent forment le lobule rénal (Ross et Pawlina., 2015 ; McBride et *al.*, 2016).

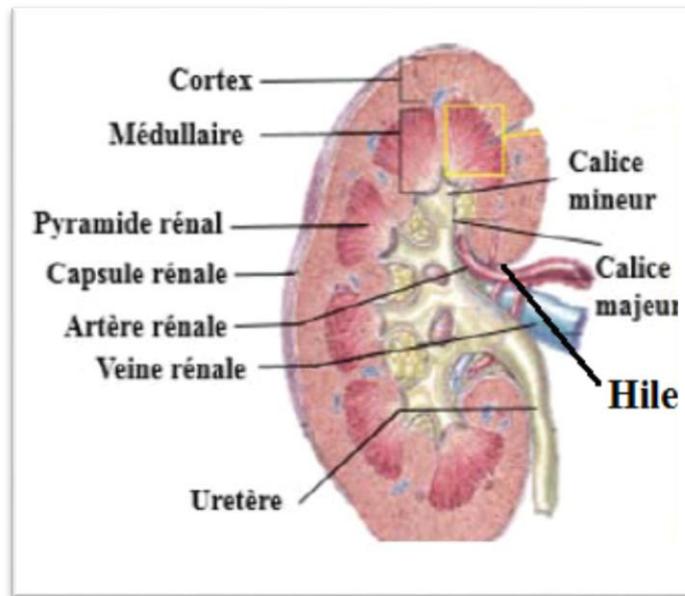


Figure 7 : Structure du rein chez l'Homme (Ross et Pawlina., 2015 ; modifiée).

La médulla est constituée de zones triangulaires appelé pyramide de Malpighi dont le sommet est perforé de plusieurs canaux papillaires dits tubes de Bellini (Ross et Pawlina., 2015). L'association de ces pyramides et de leur tissu cortical environnant constitue un lobe rénal (McBride et *al.*, 2016).

Le néphron (figure 8) est l'unité structurelle et fonctionnelle fondamentale du rein (Ross et Pawlina., 2015). Chez l'homme, il en existe environ deux millions dans la partie corticale et forme l'urine (Gartner et *al.*, 1997 ; McBride et *al.*, 2016). Il est constitué de glomérule (corpuscule de Malpighi), de tube contourné proximal, de l'anse de Henlé, du tube contourné distal, du tube collecteur et de l'appareil juxtaglomérulaire (Gartner et *al.*, 1997 ; Ross et Pawlina., 2015).

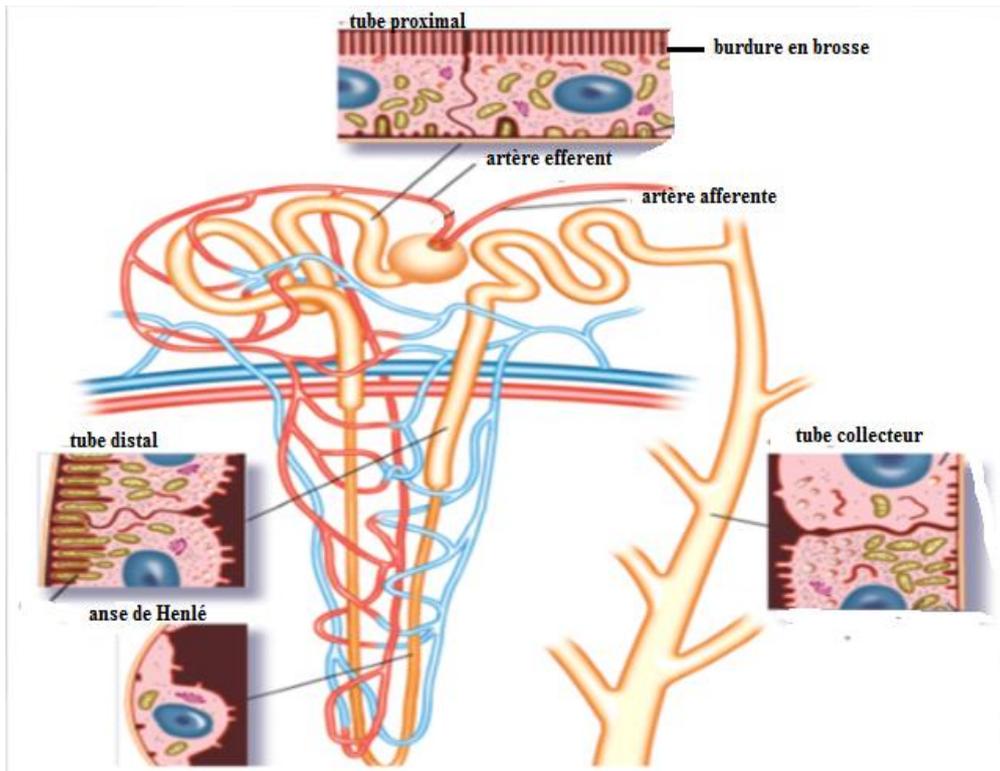


Figure 8 : Structure du néphron chez l'Homme (Hallgrímsson et *al.*, 2003 ; modifiée).

Le corpuscule de Malpighi (figure 9) est délimité par la capsule de Bowman, qui est formée d'un feuillet pariétal histologiquement fait d'un épithélium pavimenteux simple et d'un feuillet viscéral fait de grosses cellules dites podocytes. Ces cellules émettent des prolongements cytoplasmiques enveloppant des capillaires fenêtrés constituant le peloton glomérulaire et développent de nombreux processus secondaires appelés pédicelles ou processus du pied (Gartner et *al.*, 1997 ; McBride et *al.*, 2016). L'appareil juxtaglomérulaire est une structure microscopique endocrine se trouvant juste à l'extérieur de la capsule de Bowman, il est constitué de la macula dansa, des cellules mesangiales juxtaglomérulaires et des cellules sécrétrices de la rénine, il régule la fonction de chaque néphron (Ross et Pawlina., 2015).

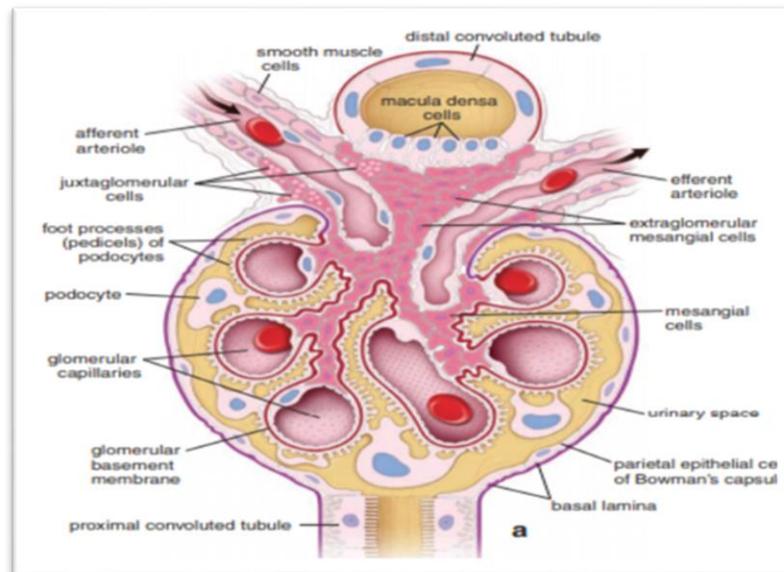


Figure 9 : Structure du corpuscule de Malpighi chez l'Homme (Ross et Pawlina, 2015).

Le tube contourné proximal est composé d'un épithélium cubique simple qui est en continuité avec l'épithélium du feuillet pariétal. La membrane plasmique de ces cellules forme au pôle basal des striations riches en mitochondries. Au pôle apical, elle présente des microvillosités hautes et nombreuses en forme de bordure en brosse.

L'anse de Henlé est subdivisée en deux parties, la première dite branche descendante grêle, avec une structure semblable à celle du tube contourné proximal. La deuxième partie de l'anse dite branche ascendante grêle est la continuité de la branche descendante en remontant vers le cortex. Sa constitution est semblable à celle du tube contourné distal avec des cellules étroites et hautes, des noyaux rapprochés les uns aux autres et forme la macula densa du tube distal (Gartner et *al.*, 1997).

Le tube contourné distal est formé d'un épithélium cubique simple. Ses cellules contiennent de courtes microvillosités à la face apicale (McBride et *al.*, 2016).

Les tubes collecteurs rassemblent plusieurs tubes distaux. Ils sont formés d'un épithélium cubique simple dont les membranes de ses cellules sont claires à voir sous microscope, un ensemble de tubes collecteurs décents vers la pyramide de Malpighi pour se réunir et former les tubes de Bellini. Ces derniers s'ouvrent dans une région perforée de la papille connue sous le nom de zone cribrosa. Chaque papille se projette dans le calice mineur, une branche du calice majeur qui à son tour est une division du bassinnet rénal (McBride et *al.*, 2016).

I.2.5. Anatomie du foie

Le foie est le viscère le plus grand de l'organisme (Ellis, 2011). Il fait partie du système digestif (Gartner et *al.*, 1997) avec une forme semblable au prisme, dont sa base est à droite son sommet s'étale vers la gauche. Son poids corporel est environ 1,5 kg chez l'adulte humain (Sparks, 2017). Le foie est enveloppé par une capsule conjonctive appelée la capsule de Glisson qui projette des travées en le divisant en quatre lobes inégaux (figure 10) : le lobe hépatique droit, le lobe gauche, le lobe carré et le lobe caudé (Kruepunga et *al.*, 2018). Chaque lobe est divisé en lobules. La vésicule biliaire se situe à la limite du lobe droit et le lobe carrée (Gartner et *al.*, 1997).

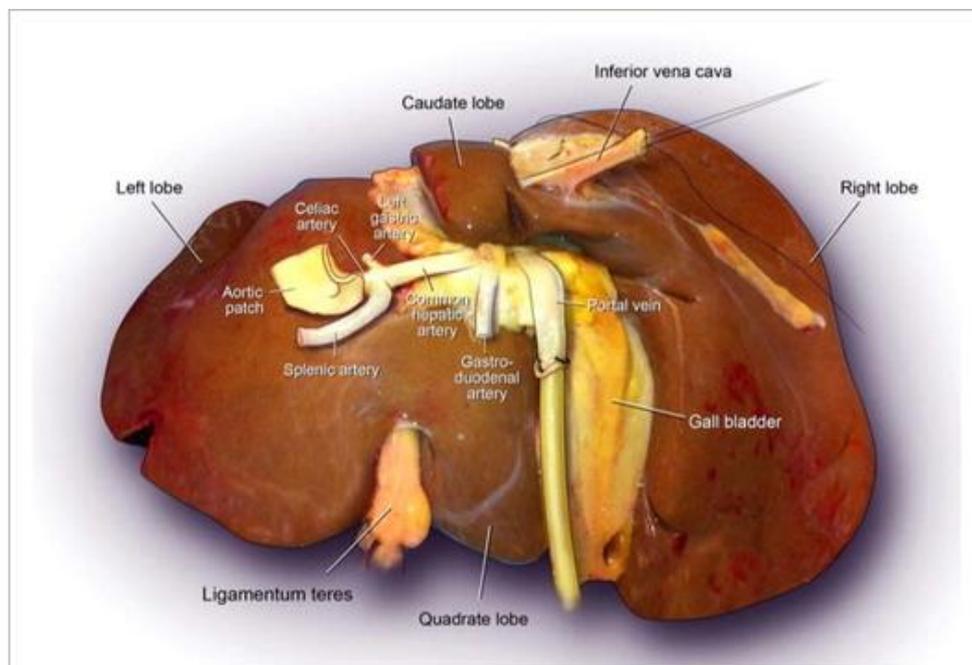


Figure 10 : Anatomie du foie chez l'Homme (Ellis, 2011).

Cet organe est très vasculaire (figure 11), il reçoit le sang de deux vaisseaux majeurs : l'artère hépatique provenant du cœur et la veine porte provenant de l'estomac et les intestins, en pénétrant dedans par le hile hépatique. Ces vaisseaux se divisent en plusieurs ramifications jusqu'à former un très dense réseau extrêmement fin dit capillaires sinusoides pour alimenter les différentes parties des lobes (Gartner et *al.*, 1997 ; Mitra et Metcalf, 2012 ;Mahadevan, 2014).

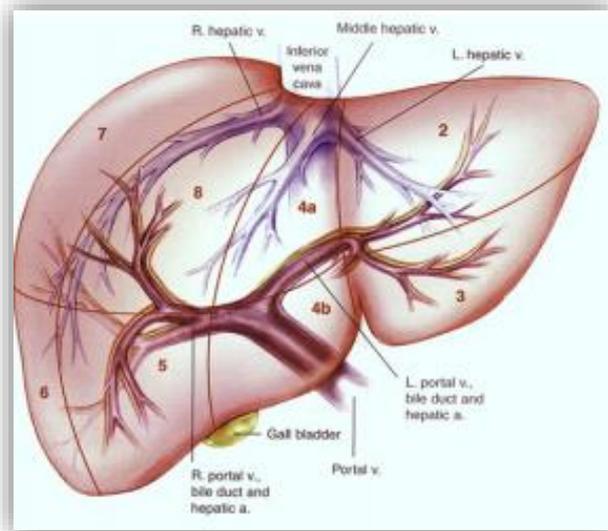


Figure 11 : Vascularisation du foie (Abdel-Misih et Bloomston, 2010).

L'innervation du foie se fait par le plexus hépatique, qui est la plus grande branche du plexus cœliaque. Le plexus hépatique contient des sympathiques afférents et efférents (T7 eT9) et fibres parasymphatiques à travers les nerfs vagues (Mitra et Metcalf., 2012).

I.2.6. Structure du foie

Le lobule hépatique (figures 12 et 13) constitue l'unité structurale fonctionnelle du foie. Il est de forme hexagonal et constitué par les espaces portes qui contiennent l'artère hépatique, la veine porte et le canal biliaire à la périphérie. Le lobule hépatique est centré par la veine centrolobulaire qui pénètre à l'intérieur du foie sous forme d'un réseau appelé capillaires sinusoides séparant les travées hépatiques formés des hépatocytes (Gartner et *al.*, 1997 ; Mitra et Metcalf., 2012 ; Mahadevan, 2014).

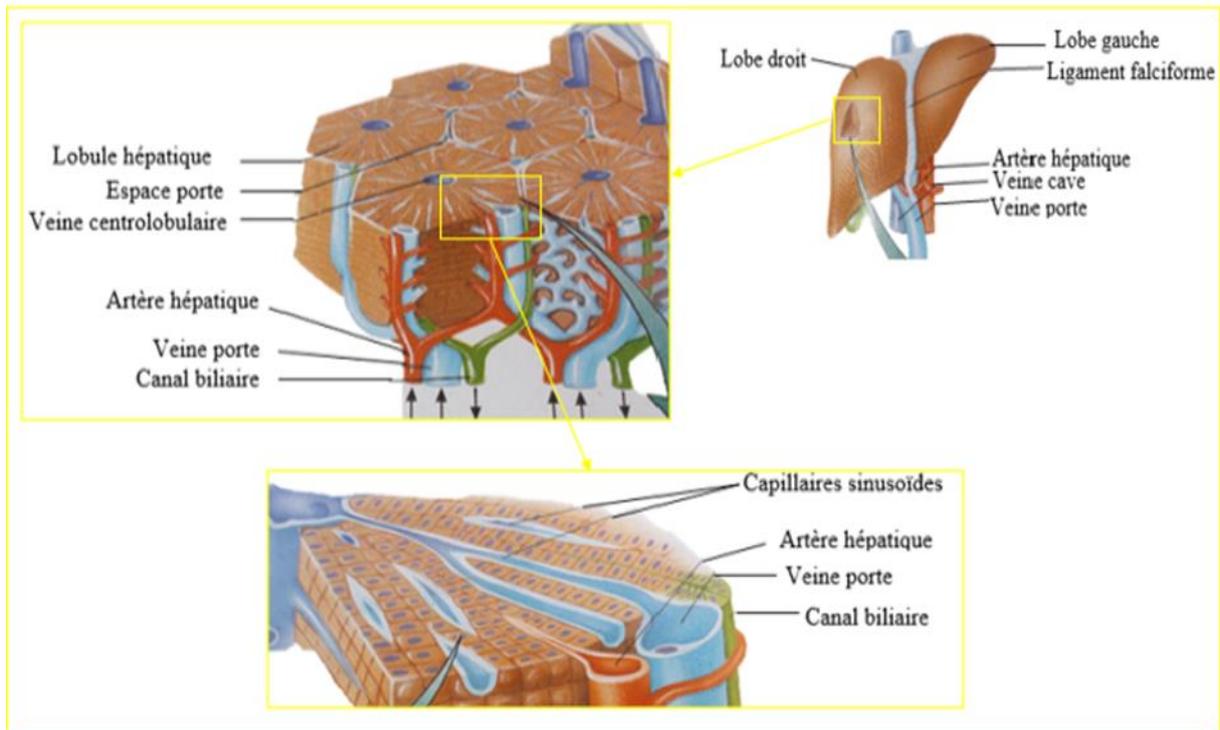


Figure 12 : Structure du parenchyme hépatique (Gartner et *al.*, 1997 ; modifiée).

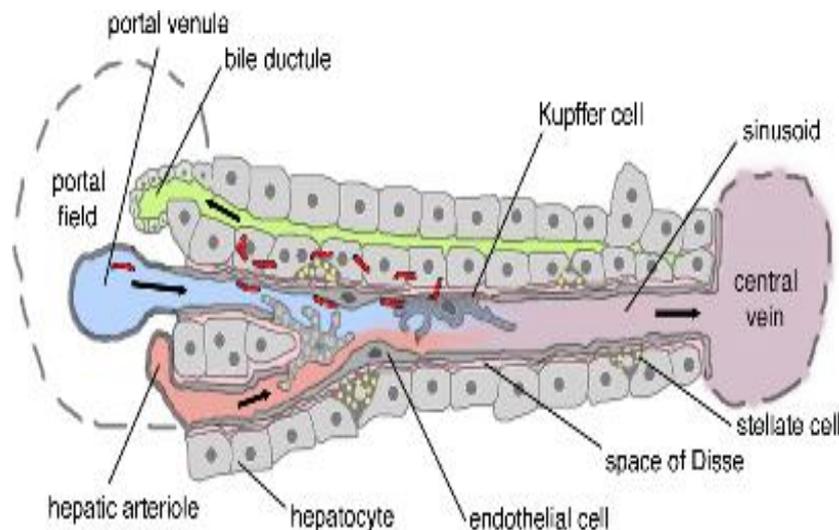


Figure 13 : Répartition cellulaire dans le foie (Frevert et *al.*, 2005).

Les hépatocytes constituent environ deux tiers des populations cellulaires totales du parenchyme hépatique. Elles sont des cellules métaboliques présentant un cytoplasme éosinophile, granuleux et riche en organites. Leurs noyaux sont volumineux, centraux et arrondis (Gartner et *al.*, 1997).

Les cellules endothéliales tapissent les capillaires sinusoides, les veines et les artères. Elles sont de forme cytoplasmique extrêmement aplati, dépourvues d'une lame basale et fenêtrées avec un noyau aussi aplati (Wise et *al.*, 1985).

Les cellules de Kupffer, de grosses cellules de la paroi sinusoidale dans la zone périportale, riches en prolongements cytoplasmiques. Leurs noyaux sous forme d'haricot, leur cytoplasme contient un nombre important de vacuoles. Ces cellules sont dispersées entre les cellules endothéliales des capillaires sinusoides (Racanelli et *al.*, 1987).

Les cellules biliaires ou cholangiocytes sont des cellules épithéliales constituant les parois des canaux biliaires. Elles sont de forme cubique avec un noyau arrondi et central (Esteller 2008 ; Glaser et *al.*, 2009).

Les cellules étoilées ou cellules de Ito se localisent dans l'espace de Disse entre les hépatocytes et les cellules endothéliales. Elles sont de forme étoilée, leur cytoplasme riche en lipides dans le but de réguler le flux sanguin sinusoidal (Hendriks et *al.*, 1987).

CHAPITRE II :
MATERIEL ET METHODES

II. MATERIEL ET METHODES

Notre travail vise à comparer la qualité de fixation de deux concentrations du formol commercialisé afin de chercher la bonne concentration en rapport avec le type tissulaire destiné à l'étude histologique. L'animal choisit pour cette étude est les souris albinos de la souche Naval Medical Research Institute (NMRI).

L'expérimentation animale est réalisée au niveau de la station expérimentale de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'université de Blida 1 et au laboratoire de Cytologie à l'hôpital universitaire N'FFISSA HAMOUD à Hussein Day à Alger pendant deux mois d'avril à juin.

II. 1. MATERIEL

II.1.1. Matériel biologique

Notre étude est menée sur 20 souris albinos adultes de sexe confondu, 10 mâles et 10 femelles, de souche NMRI. Ces souris, âgées de deux mois, leur poids corporel moyen est de 36,6 g pour les mâles et de 29,4 g pour les femelles.

II.1.2. Matériel non biologique

Une gamme de matériel non biologique est utilisée afin de réaliser notre travail expérimental. Ceci est détaillé dans l'annexe 1.

II.2. METHODES

Les manipulations effectuées sur les souris sont réalisées dans le respect de leur bien-être, excluant tous type de stress susceptible d'interférer avec les résultats. Ces manipulations expérimentales sont menées conformément à la législation algérienne de la protection des animaux d'expérimentation utilisées à des fins scientifiques [loi n°12-235/2012 ; Décret exécutif n° 10- 90].

II.2.1. Sacrifice et Prélèvement des échantillons

Les sacrifices des souris sont réalisés par décapitation rapide sans anesthésie la matinée pour éviter les variations hormonales au cours de la journée. Les organes vitaux y compris les poumons, le foie et les reins sont rapidement prélevés, rincés à l'eau physiologique et plongés dans le milieu fixateur pour les utiliser en étude histologique.

II.2.2. Etude histologique

Une étude histologique est effectuée afin d'obtenir des lames tissulaires prêtes à être colorées et observées au microscope optique. Cette étude passe par plusieurs étapes qui ont été déjà décrites par Martoja et Martoja (1967).

II.2.2.1. Fixation et rinçage

La fixation a pour but la conservation des tissus dans un état aussi proche que possible de leur état vivant tout en maintenant leurs structures morphologiques et intégrité chimique. Elle permet aussi le durcissement de l'organe.

Après le prélèvement, les fragments d'organes sont fixés dans du Formol commercialisé à 36° à des concentrations différentes à savoir 5% et 10% (annexe 1) pendant 48h. La première concentration est choisie au hasard alors que la deuxième est utilisée usuellement par les laboratoires d'histologie.

Après fixation, les fragments sont rincés à l'eau courante pendant 24 heures et mis dans des cassettes afin de faciliter le passage des liquides lors de la manipulation.

II.2.2.2. Déshydratation et éclaircissement

Ces deux étapes sont réalisées à l'aide d'un automate de circulation au laboratoire de cytologie.

Les fragments doivent être déshydratés afin d'éliminer l'eau intracellulaire pour permettre par la suite l'imprégnation à la paraffine. La déshydratation est faite par passage dans trois bains d'éthanol de concentrations croissantes :

- Un bain d'alcool 70° pendant 1 heure.
- Un bain d'alcool 95° pendant 1 heure.
- Un bain d'alcool 100° pendant 1 heure.

L'éclaircissement est ensuite effectué dans un bain de xylène pendant 1 heure. Cette étape permet d'éliminer l'alcool à partir des tissus.

II.2.2.3. Inclusion et mise en bloc

Afin de faciliter la réalisation des coupes ainsi que la conservation des tissus à long terme, les fragments sont imprégnés dans deux bains successifs de paraffine pure, durant une heure chacun, placés dans une étuve réglée à 58°C.

Les fragments sont délicatement retirés des cassettes à l'aide d'une pince puis déposés au fond des moules métalliques recouverts d'une petite quantité de paraffine fondue à une température allant de 55 à 65°C. Les cassettes sont ensuite déposées sur les fragments en remplissant les moules en paraffine. Ces cassettes présentent le type d'organe, le type et la durée de fixation. Par la suite, les moules sont démoulés après refroidissement sur une plaque métallique.

II.2.2.4. Confection des coupes

Les blocs obtenus sont coupés à l'aide d'un microtome de type « Leica » avec une épaisseur de 3µm. A chaque avancée du couteau sur le bloc de paraffine contenant le prélèvement, une coupe est réalisée. L'ensemble de ces coupes forment un ruban qui par la suite est récupéré sur un pinceau.

II.2.2.5. Collage des rubans et séchage

Les rubans sont étalés dans un bain marie (37°C), afin d'éviter la formation des plis. Puis, ils sont récupérés et collés sur des lames propres plongées perpendiculairement, sur lesquelles sont gravées le type d'organe ainsi que le type et la durée de fixation. Les lames sont séchées dans une étuve réglée à 45°C pendant 24 heures pour faire fondre la paraffine et éliminer les résidus d'eau.

II.2.2.6. Déparaffinage et réhydratation

Le déparaffinage sert à retirer la paraffine du tissu et la remplacer par l'eau pour permettre la pénétration des colorants. Les lames sont ainsi plongées dans trois bains de xylène de 10 minutes chacun.

La réhydratation permet de retirer le xylène du tissu et de le remplacer par l'eau. Ainsi les lames sont mises dans 3 bains d'éthanol à degrés décroissants comme suit :

- Alcool 100 ° pendant 5 minutes.
- Alcool 90° pendant 5 minutes.
- Alcool 70° pendant 5 minutes.

II.2.2.7. Coloration

Le but de la coloration est d'accentuer les contrastes afin de visualiser les différents composants tissulaires et cellulaires. Dans notre étude, nous avons choisi l'hématoxyline-éosine qui est une coloration topographique adoptée quotidiennement au service de cytologie. Cette coloration permet de visualiser la morphologie des cellules en colorant le noyau en bleu et le cytoplasme en rose violacé afin de déterminer leur répartition, architecture et structure. Les étapes de la coloration sont présentées dans l'annexe 1.

II.2.2.8. Montage et observation

Après la coloration, les lames sont plongées dans un bain de xylène pour l'éclaircissement. Une lamelle est fixée sur chaque lame par l'Eukitt. A la fin, les lames sont nettoyées au xylène puis séchées sous la hotte et rangées dans une boîte porte lames.

L'observation au microscope photonique (OPTIKA) est réalisée aux différents grossissements (x100, x400 et x1000). La prise des photos est effectuée à l'aide d'un appareil photos numérique.

CHAPITRE III :

RESULTATS ET DISCUSSION

III. RESULTATS ET DISCUSSION

Ce chapitre comporte l'ensemble des résultats issus d'une étude histologique sur trois organes vitaux à savoir le poumon, le foie et le rein dans le but de trouver la concentration idéale du Formol commercialisé qui maintient la structure de base d'un tissu et convient à chaque type tissulaire. Ces résultats seront présenter sous forme de photomicrographies puis comparer et discuter selon la littérature.

III.1. Structure du parenchyme pulmonaire

L'observation microscopique des coupes histologiques du parenchyme pulmonaire des souris blanches de sexe confondue a permis d'observer une structure classique avec un aspect général normal. Cet aspect est similaire avec les deux concentrations du formol utilisé lors de la fixation à savoir les 5% et 10%.

La structure de base du parenchyme pulmonaire est identifiée par la présence des bronchioles terminales qui sont les plus petites voies aériennes de conduction, a différents diamètres et formes, dotées d'un épithélium simple (figures 14a, b, c et d). Ces derniers se ramifient en bronchioles respiratoires dont la paroi est plus fine et se termine dans des canaux alvéolaires qui possèdent des sacs alvéolaires dont chacun d'entre eux contient généralement trois à quatre alvéoles (figures 14b et c). Ces alvéoles ont un aspect vide et séparés les uns des autres par une fine cloison interalvéolaire (figures 16a, c et d). La lumière des bronchioles terminales est tapissée d'un épithélium prismatique simple contenant les cellules de Clara dont leur contour est plus au moins net. Le cytoplasme est plus ou moins important et granuleux (figure 16b). Les noyaux ont un aspect plus au moins aplatis (figure 16b).

Les sacs alvéolaires ne possèdent pas une propre paroi (figure 15a). De petites bronchioles sont également visibles mais nous ne pouvons pas préciser leur types avec certitude à cause du faible grossissement (figures 14a et c). Plusieurs vaisseaux sanguins appelés branches de la circulation pulmonaire sont reconnus par la présence des hématies (figures 14c, d et 16d).

Le chorion est fin et entouré par du muscle lisse (figure 15b). Les sacs alvéolaires sont tapissés d'un épithélium composé de cellules dites pneumocytes (figures 15a, c et d).

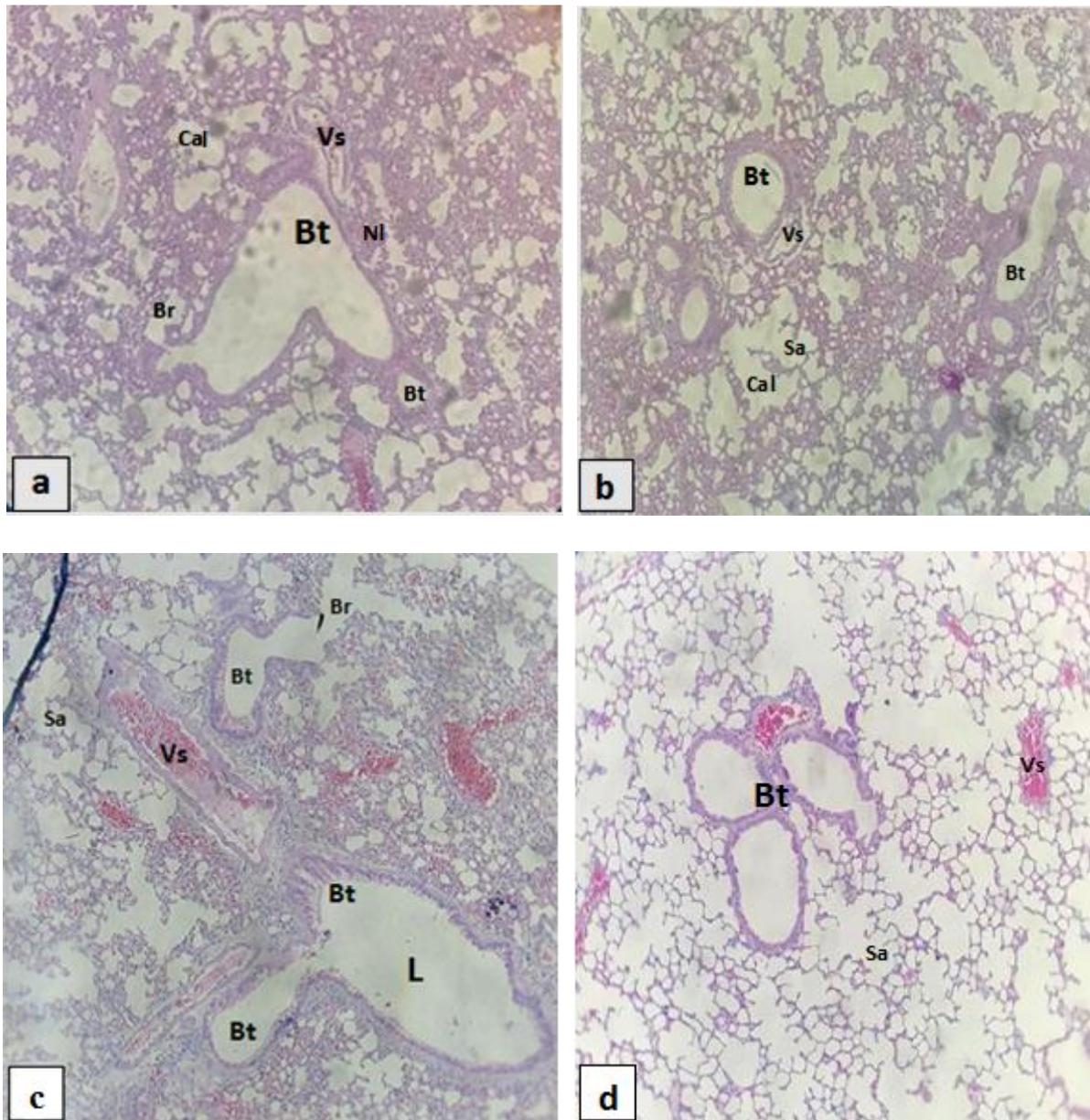


Figure 14 : Structure du parenchyme pulmonaire chez la souris blanches de souche NMRI (a et c : mâles ; b et d : femelles). Fixateur : formol 5% (a et b) ; 10 % (c et d).

Coloration : Hématoxyline Eosine ; Grossissement : X100 ; Micrographie originale.

Bt : bronchiole terminale ; Br : bronchiole respiratoire ; Vs : vaisseaux sanguins ; L : lumière ; Sa : sac alvéolaire ; Cal : canal alvéolaire.

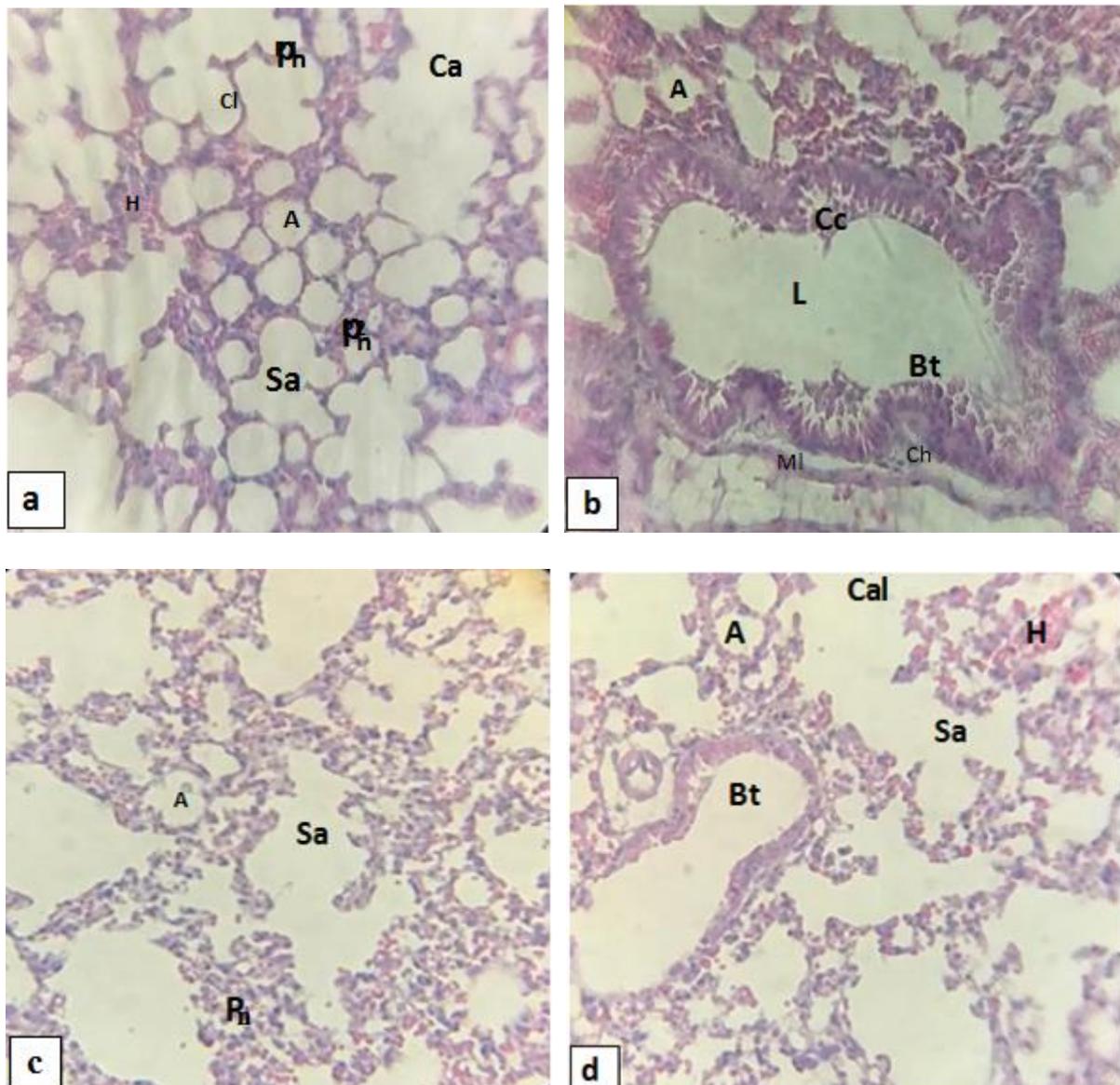


Figure 15 : Structure du parenchyme pulmonaire chez la souris blanche de souche NMRI (a et c mâles ; b et d femelles). Fixateur : formol 5% (a et b) ; 10 % (c et d).

Coloration : Hématoxyline Eosine ; Grossissement : X400 ; Micrographie originale.

Bt : bronchiole terminale ; Sa : sac alvéolaire ; Cal : canal alvéolaire ; A : alvéoles ; H : hématies ; L : lumière ; Cc : cellules de Clara ; Pn : pneumocytes ; Cl : cloison interalvéolaire ; Ml : muscle lisse ; Ch : chorion.

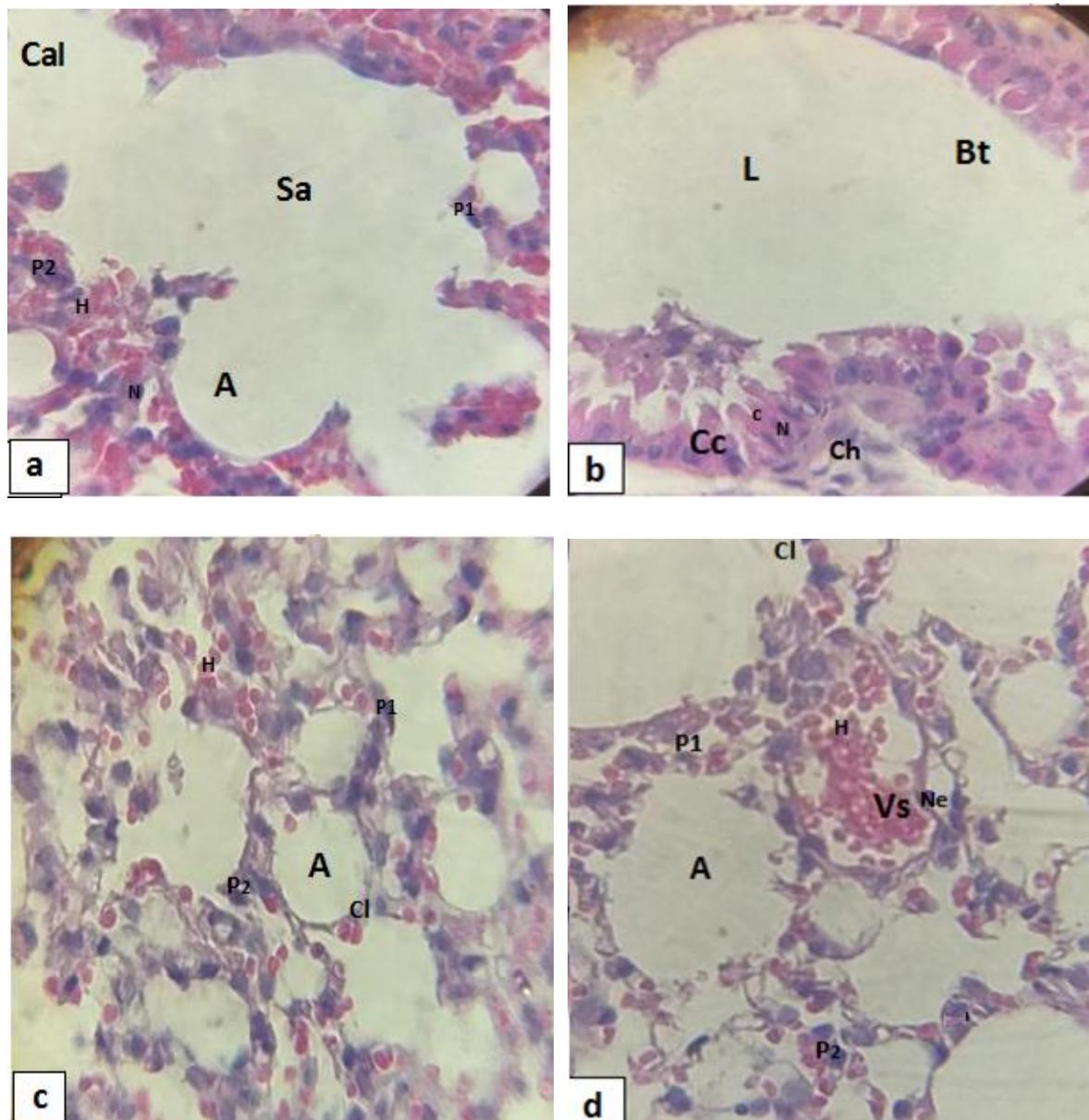


Figure 16 : Structure du parenchyme pulmonaire chez la souris blanche de souche NMRI (a et c mâles ; b et d femelles). Fixateur : formol 5% (a et b) ; 10 % (c et d).

Coloration : Hématoxyline Eosine ; Grossissement : X1000 ; Micrographie originale.

Bt : bronchiole terminale ; Cal : canal alvéolaire ; A : alvéoles ; Vs : vaisseaux sanguins ; H : hématies ; Cl : cloisons interalvéolaires ; P1 : pneumocytes de type I ; P2 : pneumocytes de type II ; Cc : cellules de Clara ; N : noyau ; C : cytoplasme ; Ch : chorion.

III.2. Structure du parenchyme rénal

La structure générale du parenchyme rénal est apparue similaire lors de l'observation des photomicrographies en utilisant les deux concentrations avec les deux sexes.

Le parenchyme rénal révèle une organisation structurale normale avec une fine ligne externe claire dite capsule rénale (figures 17a, b et d). Une partie sombre plein de petites vésicules est située juste sous la capsule est le cortex (figure 17d). Ces vésicules plus au moins arrondies, bien apparus sont appelées glomérule (corpuscule de Malpighi) (figures 17a, b et d ; 18d et 19b). Ces formations sont limitées en périphérie par une capsule la capsule de Bowman. Cette capsule est formée d'un feuillet pariétal par un épithélium pavimenteux simple qui s'est réfléchi pour donner un feuillet viscéral. Ce dernier est marqué par la présence d'un nombre très important de grosses cellules qui recouvrent les parois des capillaires : les Podocytes. Entre ces deux feuillets se situe une cavité donnant un aspect net : la chambre glomérulaire qui se termine vers le pole urinaire. Au centre se situe une touffe de petits capillaires sanguins dans lesquels circulent les globules rouges. Ces capillaires sont reliés par des cellules mesangiales (figure 19b).

La partie claire est la médullaire rénale (figure 17d). Elle constitue un ensemble compacte de petites formations arrondies d'aspect tubulaire dit tubes rénaux (tubes proximaux, distaux et anse de Henlé) en coupe axial et longitudinale (figures 17c ; 18a, b, c et d ; 19a, b, c et d). Les tubes contournés proximaux sont de forme d'épingle à chevaux ou d'anneaux selon la coupe histologique. Ils sont constitués d'un épithélium simple dont les cellules sont aisément reconnaissables au microscope optique du fait de la bordure en brosse de leur partie apicale et un cytoplasme moins apparent avec des noyaux basaux (figures 18a, b, c et d ; 19a et d). Les tubes contournés distaux sont présentés par leur lumière qui est plus grande que celle des tubes proximaux. Ils présentent un cytoplasme d'un aspect granuleux avec des noyaux apicaux (figures 18b, c et d ; 19b et d). Nous avons aussi pu voir l'anse de Henlé qui est de forme arrondis un petit nombre de noyau et sa petite lumière (figure 18c). Les tubes collecteurs sont distingués par leur grande lumière. Ses cellules sont plus au moins net avec des noyaux plus au moins arrondis et centraux (figure 19c).

Des structures arrondis et tubulaires fines entourant les tubes rénaux, sont les vaisseaux sanguins où circulent les hématies (figures 17a, b, c et d ; 18a, b, c et d ; 19a et d).

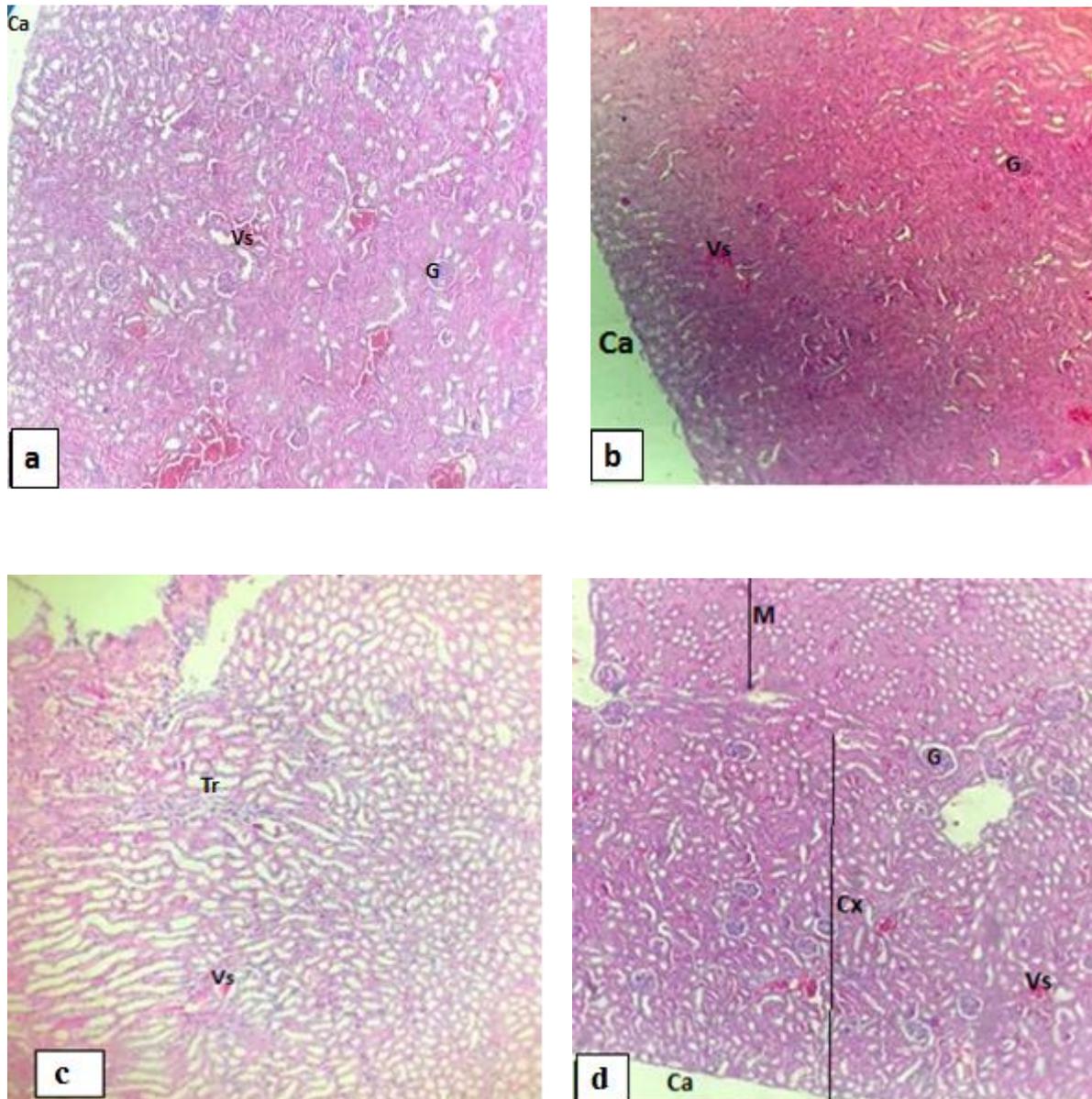


Figure 17 : Structure du parenchyme rénale chez la souris blanche de souche NMRI (a et c mâles ; b et d femelles). Fixateur : formol 5% (a et b) ; 10 % (c et d).

Coloration : Hématoxyline Eosine ; **Grossissement :** x100 ; **Micrographie originale.**

Ca : capsule rénale ; Cx : cortex ; M : médulla ; G : glomérule rénal ; Vs : vaisseau sanguin ; Tr : tube rénal.

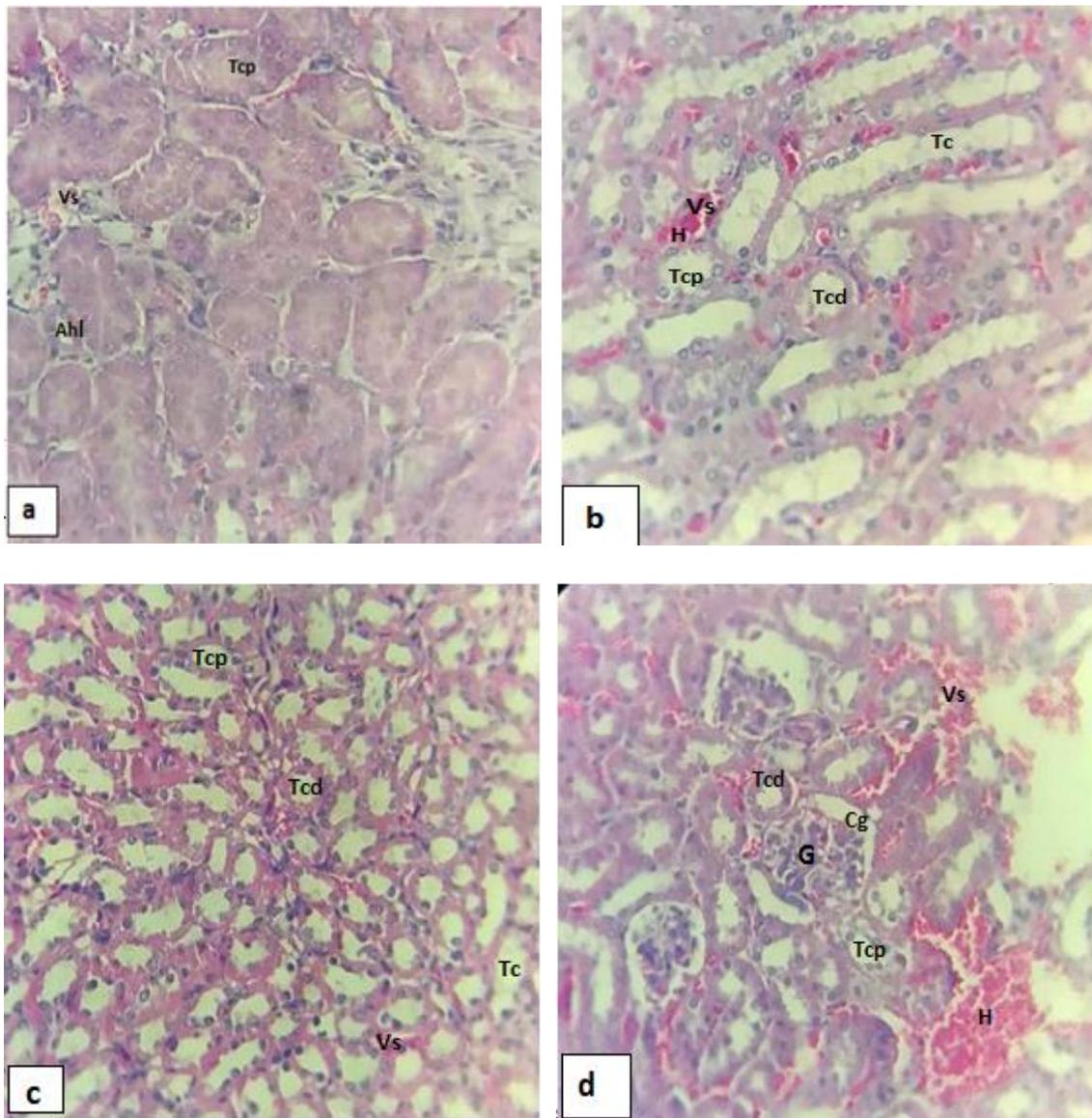


Figure 18 : Structure du parenchyme rénale chez la souris blanche de souche NMRI (a et c mâles ; b et d femelles) Fixateur : formol 5% (a et b) ; 10 % (c et d).

Coloration : Hématoxyline Eosine ; Grossissement : x100 ; Micrographie originale.

G : glomérule ; Cg : chambre glomérulaire ; Tcp : tube contourné proximal ; Tcd : tube contourné distal ; Tc : tube collecteur ; Ahl : anse de Henlé ; Vs : vaisseau sanguin ; H : hématies.

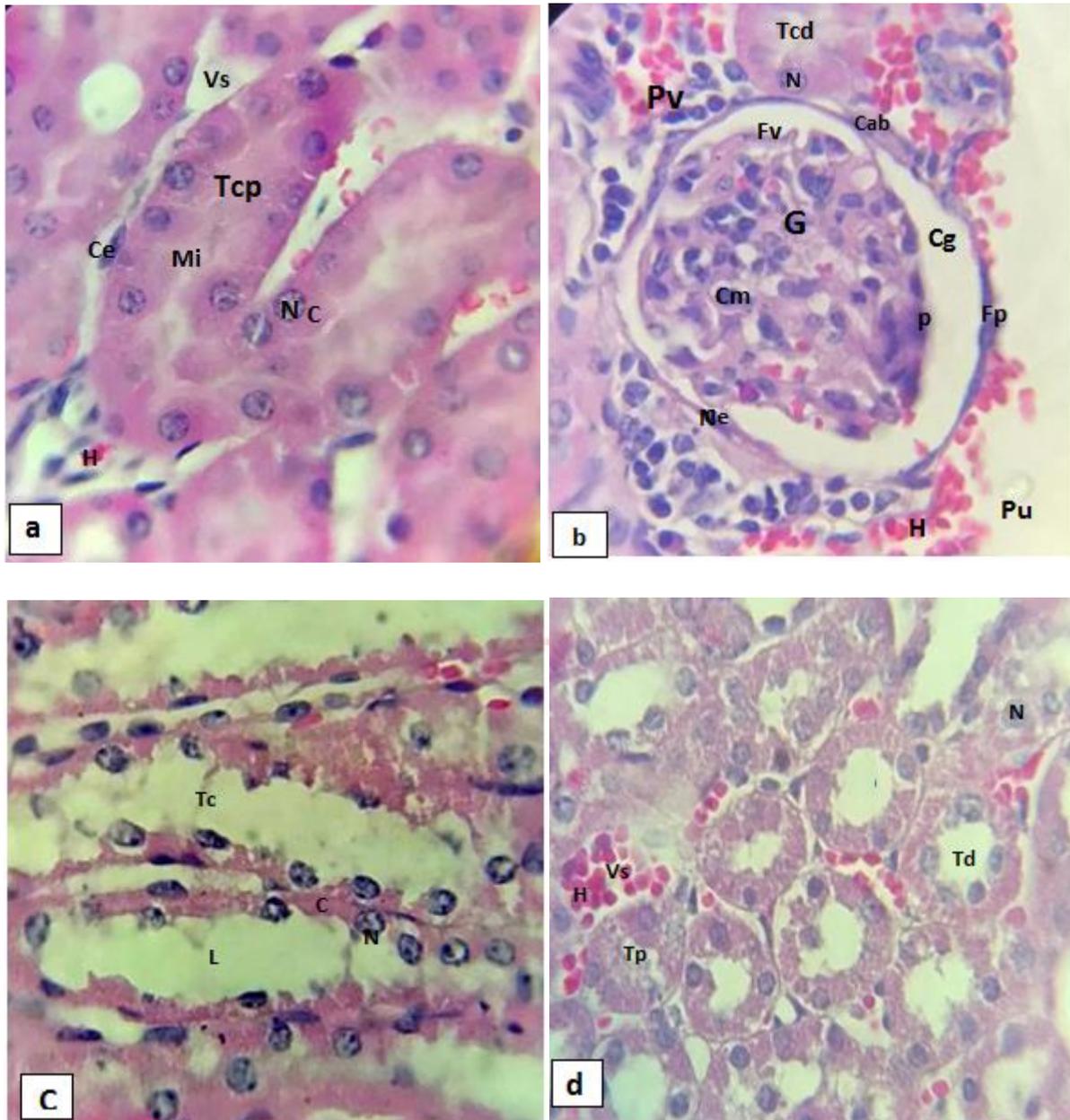


Figure 19 : Structure du parenchyme rénale chez la souris blanche de souche NMRI (a et c mâles ; b et d femelles). Fixateur : formol 5% (a et b) ; 10 % (c et d).

Coloration : Hématoxyline Eosine ; Grossissement : x1000 ; Micrographie originale.

N : noyau ; C : cytoplasme ; Mi : microvillosité ; Tcd : tube contourné distal ; Tcd : tube contourné distal ; Ne : cellule endothéliale ; H : hématies ; Vs : vaisseau sanguin ; Pv : pole vasculaire ; Pu : pole urinaire ; G : glomérule ; Fp : feuillet pariétal ; Fv : feuillet viscéral ; P : podocytes ; Cm : cellules mesangiale ; L : lumière ; Tc : tube collecteur ; Cab : capsule de Bowman.

III.3. Structure du parenchyme hépatique

En général, l'observation microscopiques des coupes au niveau du foie des souris mâles et femelles a montré des lobes caractérisés par la présence de plusieurs veines centolobulaires (figures 20a, b, c et d ; 21a, b et d) entourées des cellules endothéliales et possèdent des lumières importantes (figures 21a ; b et d) où circulent les hématies (figures 21a et b) et les leucocytes (figure 21a).

Les lobes sont délimités en périphérie par des espaces portes contenant une veine porte, un canal biliaire (figure 22a) et l'artère hépatique (figures 20a et c ; 21c). La veine porte constituée d'une paroi très fine bordée d'une couche de cellules endothéliales et d'une lumière où les hématies et les leucocytes circulent. A proximité de cette veine se trouve les canalicules biliaires d'où chaque canal est constitué d'une seule assise de cellules d'aspect allongé. Leur lumière est plus petite que celle de la veine (figure 22a).

Nous observons aussi dans le parenchyme des travées hépatocytaires plus ou moins nettes disposées sous forme d'un réseau d'hépatocytes séparé par des capillaires sinusoides (figures 20a, b et d ; 21b et d ; 22a et b). Les hépatocytes ont une taille de noyaux variable (figures 22a, b, c et d), avec une forte présence de cellules binucléés (la figure 22b en particulier). Les noyaux sont majoritairement moyens, arrondis avec une chromatine généralement dispersée (figure 22a et b) témoignant l'aspect actif du noyau. Le contour des cellules est plus au moins net (figure 22a) avec un cytoplasme d'aspect condensé (figure 22b) et granuleux (figure 22a) ce qui est différent de la (figure 22c) où le cytoplasme est peu apparent et les cellules sont mal délimitées (figures 22c et d). Les capillaires sinusoides sont bordées de cellules endothéliales (figure 22c) et présentent des hématies (figures 22b et c). Les cellules de kupffer sont observées dans certains capillaires (figure 22b).

Il faut signaler que la comparaison entre les résultats obtenus des deux concentrations du formol a montré que la fixation à 5% conserve mieux la structure des cellules hépatiques : le cytoplasme est bien délimité et les noyaux, la chromatine et les nucléoles sont bien visibles. Cette fixation nous a permis même de voir les cellules endothéliales des capillaires.

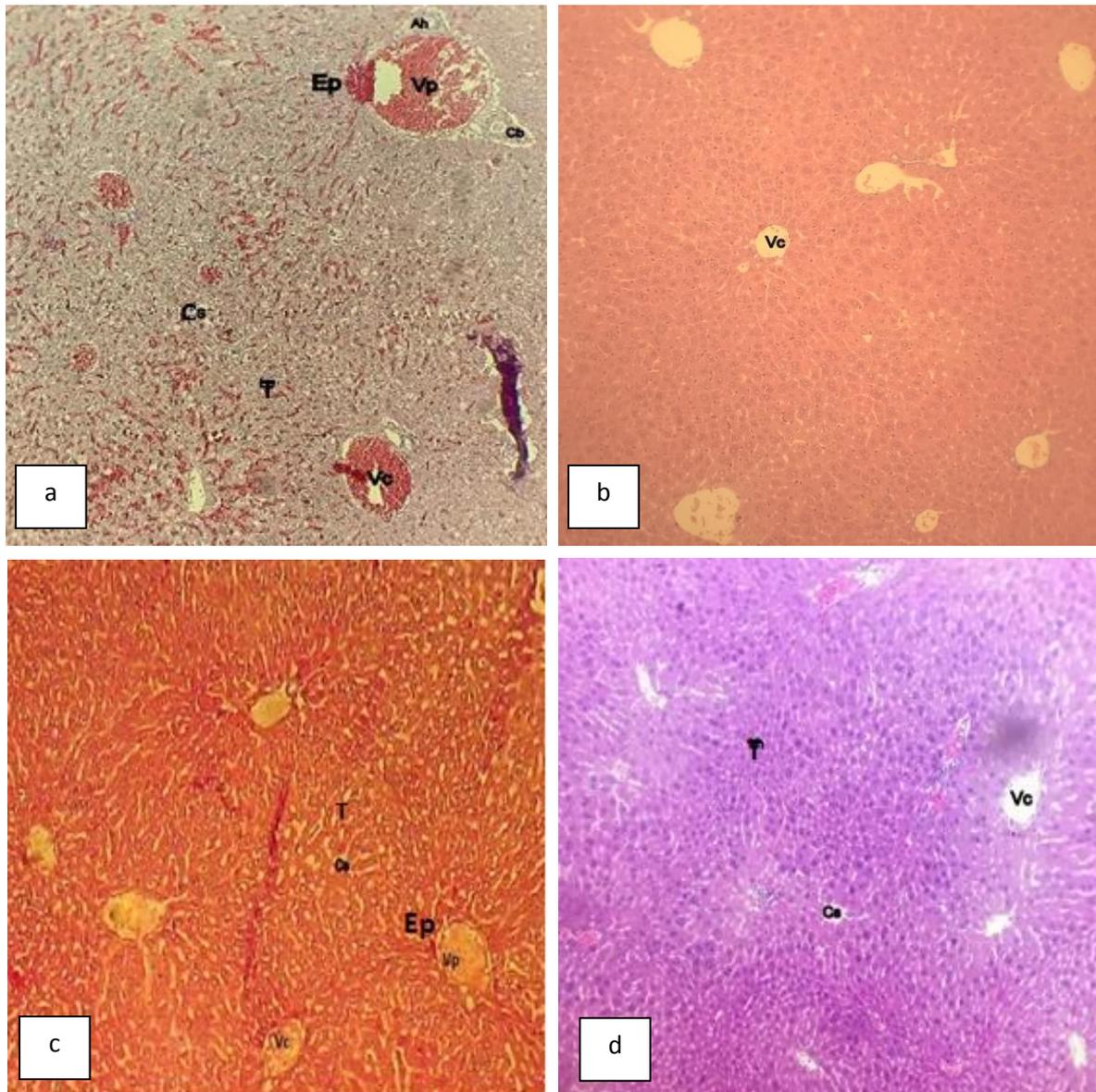


Figure 20 : Structure du parenchyme hépatique chez la souris blanche de souche NMRI (a et c mâles ; b et d femelles). Fixateur : formol 5% (a et b) ; 10 % (c et d).

Coloration : Hématoxyline Eosine. **Grossissement :** x 100. **Micrographie originale.**

Vc : veine centrolobulaire ; Ep : espace porte ; Vp : veine porte ; Ah : artère hépatique ; Cb : canal biliaire ; Cs: capillaire sinusoiide ; T : travée hépatocytaire.

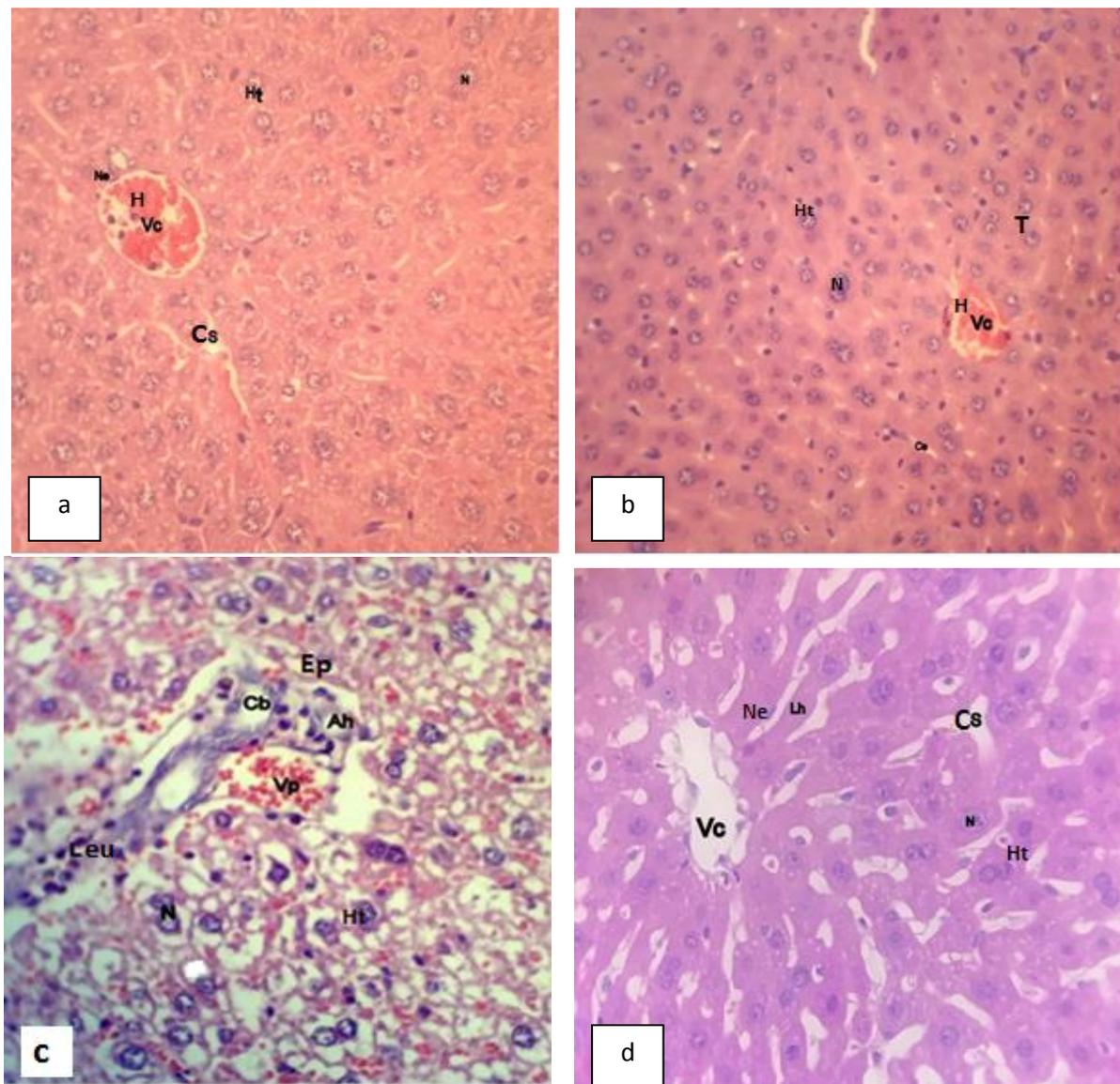


Figure 21 : Structure du parenchyme hépatique chez la souris blanches de souche NMRI (a et c mâles ; b et d femelles). Fixateur : formol 5% (a et b) ; 10 % (c et d).

Coloration : Hématoxyline Eosine. Grossissement : x 400. Micrographie originale.

Vc : veine Centro lobulaire ; Ep : espace porte ; Vp : veine porte ; Ah : artère hépatique ; Cb : canal biliaire ; Cs: capillaire sinusöide ; Lh : lames hépatocytaires ; Ht : hépatocyte ; N : noyau ; C : cytoplasme ; H : hématie ; Ne : cellule endothéliale ; Leu : leucocytes.

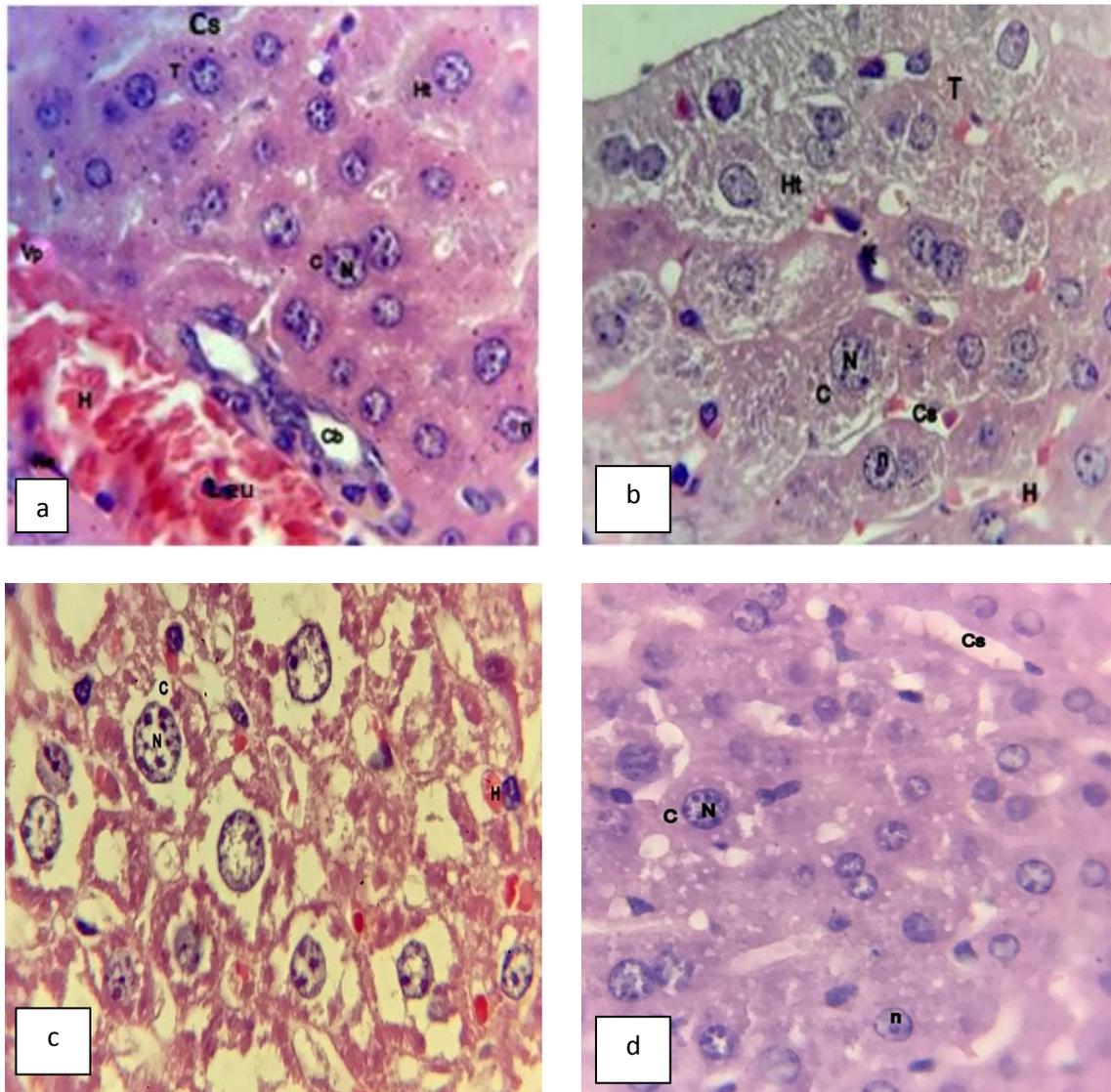


Figure 22 : Structure du parenchyme hépatique chez la souris blanche (a, b et d mâles ; c : femelles) de souche NMRI fixées avec du formol (a et b : 5 % ; c et d : 10 %).

Coloration : Hématoxyline Eosine. **Grossissement :** x1000. **Micrographie originale.**

Vp : veine porte ; H : hématie ; Leu : leucocytes ; N : noyau ; C : cytoplasme ; n : nucléole ; Cs : capillaire sinusoiide ; K : cellules de kupffer ; Cb : canalicule biliaire ; Ne : cellules endothéliales ; Ht : hépatocyte ; T : travée hépatocytaire.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Notre travail vise à comparer la qualité de fixation de deux concentrations du formol commercialisé afin de chercher la bonne concentration en rapport avec le type tissulaire destiné à l'étude histologique.

Les résultats obtenus nous ont permis de tirer les conclusions suivantes :

- ✓ La possibilité d'utiliser différentes concentrations du formol commercialisé pour fixer les organes.
- ✓ Les deux concentrations choisies du formol donnent les mêmes résultats avec les reins et les poumons.
- ✓ Le parenchyme hépatique est bien fixé avec le formol à 5%.

En perspectives, il serait intéressant d'élargir l'étude en :

- ✓ Recherche de l'effet du formol à 5% sur les autres organes.
- ✓ Recherche la concentration idéale pour fixer chaque tissu.
- ✓ Recherche d'autres fixateurs à part le formol.
- ✓ Chercher l'influence du temps de la fixation.
- ✓ Chercher d'autres solutions qui remplacent l'eau.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Abdel-Misih, S. R. Z., & Bloomston, M. (2010). Liver Anatomy. *The Surgical clinics of North America*, 90(4), 643-653. <https://doi.org/10.1016/j.suc.2010.04.017>
2. Bonnard N., Falcy M., Pasquier E., Protois J.C., Aldéhyde formique et solutions aqueuses. Fiche toxicologique FT7 INRS., 2006.
3. Chaudhry, R., & Bordoni, B. (2021). Anatomy, Thorax, Lungs. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470197/>
4. Cogliano VJ, Grosse Y, Baan RA, et al. (2005). Meeting report: Summary of IARC monographs on formaldehyde, 2-butoxyethanol, and 1-tertbutoxy-2-propanol. *Environ Health Perspect* ;113(9):1205-8.
5. Décret no 2001-97 du 1er février 2001 établissant les règles particulières de prévention des risques cancérigènes, mutagènes ou toxiques pour la reproduction et modifiant le code du travail.
6. Douglas, M.P. and S.O. Rogers. (1998). *DNA damage caused by common cytological fixatives*. *Mutat Res*, **401**(1-2): p. 77-88.
7. Ellis, H. (2011). *Anatomie du foie. Chirurgie (Oxford)*, 29 (12), 589-592. doi: 10.1016 /j.mpsur.2011.09.012.
8. Esteller, A. (2008). Physiology of bile secretion. *World journal of gastroenterology*. 14(37), pp. 5641-9.
9. Fox, C. H., Johnson, F. B., Whiting, J., & Roller, P. P. (1985). Formaldehyde fixation. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 33(8), 845-853. <https://doi.org/10.1177/33.8.3894502>
10. Freidman, S.L. (2008). Hepatic stellate cells: protean, multifunctional and enigmatic cells of the liver. *Physiological reviews*, 88(1), pp. 125-72.
11. Frevert, U., Engelmann, S., Zougbedé, S., Stange, J., Ng, B., Matuschewski, K., Liebes, L., & Yee, H. (2005). Intravital Observation of Plasmodium berghei Sporozoite Infection of the Liver. *PLOS Biology*, 3(6), e192. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0030192>
12. Gartner L. P., Hiatt J.L., (1997). Atlas en couleur d'histologie. Ed., Pradel, France, 397p.
13. Gerber, M. A., & Thung, S. N. (1987). Histology of the Liver. *The American Journal of Surgical Pathology*, 11(9), 709–710. doi:10.1097/00000478-198709000-00007.

14. Gerston, K. (2004). *Viability of mycobacteria in formalin-fixed lungs*. *Human Pathology*, 35(5), 571–575. doi:10.1016/j.humpath.2004.01.009.
15. Glaser, S.S et al. (2009). Cholangiocytes proliferation and liver fibrosis. *Expert reviews in molecular medicine*, 11, p. e7.
16. Gurr E. *Staining Practical and theoretical*, Arrowsmith JW, Birtol, 1962, 471-485.
17. Hendriks, H.F., Brouwer, A. and Knouk, D.L., (1987). The role of hepatic fat-storing (stellate) cells in retinoid metabolism. *Hepatology (Baltimore, MD.)*, 7(6), pp.1368-71.
18. Hewitt, S.M., et al. (2008). Tissue handling and specimen preparation in surgical pathology: issues concerning the recovery of nucleic acids from formalin-fixed, paraffin-embedded tissue. *Arch Pathol Lab Med*. **132**(12), p. 1929-35.
19. Hofman, L. (2009). *Quels fixateurs ? Pour quelles indications ? Principaux critères d'évaluation des méthodes alternatives à la fixation par le formol*. *Revue Francophone Des Laboratoires*, 2009(408), 45–48. doi:10.1016/s1773-035x(09)70050-4.
20. Hollander, C. F., van Bezooijen, C. F. A., & Solleveld, H. A. (1987). Anatomy, Function and Aging in the Mouse Liver. In P. L. Chambers, D. Henschler, & F. Oesch (Éds.), *Mouse Liver Tumors* (p. 244-250). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-642-71617-1_22
21. Homer, R. J., & Britto, C. J. (2014). Introductory Anatomy, Histology, and Cell Biology of the Lung. In *Pathobiology of Human Disease* (p. 2538-2557). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386456-7.05301-6>
22. Janqueira LC, Carneiro J. *Basic histology*, 10th edition, Lange Medical Books McGraw-Hill, New York, 2003.
23. Khan, Y. S., & Lynch, D. T. (2021). Histology, Lung. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK534789/>
24. Kradin, R. L. (2017). Chapter 2—Anatomy of the Lung. In R. L. Kradin (Éd.), *Understanding Pulmonary Pathology* (p. 5-19). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801304-5.00002-2>
25. Kruepunga, N., Hakvoort, T. B. M., Hikspoors, J. P. J. M., Köhler, S. E., & Lamers, W. H. (2019). Anatomy of rodent and human livers : What are the differences? *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1865(5), 869-878. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2018.05.019>
26. Kruepunga, N., Hakvoort, T. B. M., Hikspoors, J. P. J. M., Köhler, S. E., & Lamers, W. H. (2018). *Anatomy of rodent and human livers: What are the differences?* *Biochimica*

et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease. doi:10.1016/j.bbadis.2018.05.019.

27. Leeson CR, Leeson TS. *Histology*, 3rd edition, Saunders WB, Philadelphia, 1976.
28. Leeson, C. R., & Leeson, T. S. (1976). *Histology*, 3rd edition, Saunders WB, Philadelphia.
29. Lohse, A.S. et al, (1996).antigen presenting function and B7 expression of murine sinusoidal endothelial cells and kuppfer cells. *Gastroenterology*, 110(4), pp.1175-81.
30. Mack, S. M., Wu, C.-W., Zhang, C., Richard Harding, & Pinkerton, K. E. (2020). Lung Anatomy and Aging. In *Reference Module in Biomedical Sciences* (p. B9780128012383115000). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.11600-9>
31. Mahadevan, V. (2014). *Anatomy of the liver .Surgery (Oxford)*. Doi : 10.1016/j.mpsur.2014.10.004.
32. Mahadevan, V. (2019). Anatomy of the lower urinary tract. *Surgery (Oxford)*, 37(7), 351-358. <https://doi.org/10.1016/j.mpsur.2019.04.009>
33. Mahadevan, V. (2020). Anatomy of the liver. *Surgery (Oxford)*, 38(8), 427-431. <https://doi.org/10.1016/j.mpsur.2014.10.004>
34. Martoja R., Martoja M., 1967- Initiation aux techniques de l’histologie animale. Ed., Masson, Paris, 345p.
35. McBride, J. M. (2016). Embryology, Anatomy, and Histology of the Kidney. In D. E. Hansel, C. J. Kane, G. P. Paner, & S. S. Chang (Éds.), *The Kidney : A Comprehensive Guide to Pathologic Diagnosis and Management* (p. 1-18). Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3286-3_1
36. McGhee, J.D. and P.H. von Hippel. (1975). Formaldehyde as a probe of DNA structure. I. Reaction with exocyclic amino groups of DNA bases. *Biochemistry*, 14(6): p. 1281-96.
37. McGhee, J.D. and P.H. von Hippel. (1975). *Formaldehyde as a probe of DNA structure. II. Reaction with endocyclicimino groups of DNA bases.* *Biochemistry*, 1975. **14**(6): p. 1297-303.
38. Meyerholz, D. K., Suarez, C. J., Dintzis, S. M., & Frevert, C. W. (2018). Respiratory System. In *Comparative Anatomy and Histology* (p. 147-162). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802900-8.00009-9>

39. Mitra, V., & Metcalf, J. (2012). Functional anatomy and blood supply of the liver. *Anaesthesia & Intensive Care Medicine*, 13(2), 52-53. <https://doi.org/10.1016/j.mpaic.2011.11.005>
40. Murray, I., & Paolini, M. A. (2021). Histology, Kidney and Glomerulus. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554544/>
41. Plénat, F., et al. (2001). [Formaldehyde fixation in the third millennium]. *Annales de pathologie*. 21(1): p. 29-47.
42. Plénat, F., et al. (2006). [Molecular consequences of fixation and tissue processing: the examples of nucleic acids and proteins]. *Annales de pathologie*, 26(1): p. 8-21.
43. Racanelli, V., & Rehermann, B. (2006). The liver as an immunological organ. *Hepatology*, 43(S1), S54–S62.
44. Racanelli, V., & Rehermann, B. (2006). The liver as an immunological organ. *Hepatology*, 43(S1), S54–S62.
45. Ramos-Vara, J.A., (2005). Technical aspects of immunohistochemistry. *Vet Pathol*, 42(4): p. 405-26.
46. Ross, M. H., & Pawlina, W. (2015). *Histology : A Text and Atlas: With Correlated Cell and Molecular Biology* (Seventh, North American Edition). Lippincott Williams and Wilkins.
47. Runge, I., Schneider, F., Lutun, P., Piat, J. M., Bilbault, P., & Tempé, J. D. (1993). *Une intoxication inhabituelle mais souvent grave : L'ingestion de formol. Réanimation Urgences*, 2(5), 567–570. doi:10.1016/s1164-6756(05)80147-1.
48. Sparks, J. L. (2017). *Liver Tissue Engineering. Tissue Engineering for Artificial Organs*, 297–324. doi:10.1002/9783527689934.ch9.
49. Tomashefski, J. F., & Farver, C. F. (2008). Anatomy and Histology of the Lung. In J. F. Tomashefski, P. T. Cagle, C. F. Farver, & A. E. Fraire (Éds.), *Dail and Hammar's Pulmonary Pathology : Volume I: Nonneoplastic Lung Disease* (p. 20-48). Springer. https://doi.org/10.1007/978-0-387-68792-6_2
50. Wise, E. et al. (1985). The liver sieve: considerations concerning the structure and function of endothelial fenestrae, the sinusoidal wall and space of the disse. *Hepatology (Baltimore, MD.)*, 5(4), pp.683-92.

ANNEXE

I. Matériel et réactifs**I.1. Réactifs et solutions**

- Hématoxyline.
- Eosine 0,5%.
- Fixateur formaldéhyde à 36°.
- Ethanol 70% 95% et 100%.
- Paraffine.
- Eau distillé et eau du robinet.
- Xylène.
- Eukitt (résine synthétique de montage).
- Eau physiologique.
- Huile d'émersion.

I.2. Appareillages

- Microtome (Leica).
- Plaque chauffante (Leica).
- Plaque refroidissante (Leica).
- Etuve (Panasonic).
- Microscope photonique (OPTIKA).
- Balance électrique.
- Automate de circulation (Leica).
- Hotte aspirante pour le montage (Chem FAST).
- Bain marie.

I.3. Autre matériel

- Cassettes d'inclusion en plastiques.
- Portes lames.
- Bacs et paniers de colorations.
- Lames porte objet et lamelles.
- Graveur.
- Cages.
- Paire de ciseaux.
- Pinces.
- Moule en métal.
- Pinceau.
- Panier porte lames.
- Trousse de dissection.
- Boite de pétri en verre.
- Eprouvette graduée.
- Bécher.
- Pissette d'eau désilée.



Figure 23 : Formol à 36°.



Figure 24 : Eau physiologique.



Figure 25 : Huile d'émersion.



Figure 26 : Paraffine.



Figure 27 : Ethanol.



Figure 28 : Eukitt.



Figure 29 : Xylène.



Figure 30 : Balance électrique.



Figure 31 : Cassette d'inclusion en plastique.



Figure 32 : Porte lames.



Figure 33 : Microtome (LEICA).



Figure 34 : Plaque refroidissante.



Figure 35 : Bain marie.



Figure 36 : Etuve (PANASONIC).



Figure 37 : Hotte aspirante (ChemFAST).



Figure 38 : Microscope photonique (OPTIKA).

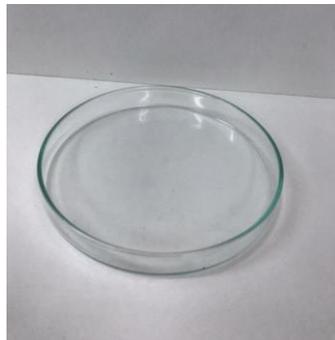


Figure 39 : Boîte de pétri en verre.



Figure 40 : Bacs et panier de coloration.



Figure 41 : Trousse de dissection.



Figure 42 : Moule en métal.



Figure 43 : Graveur.



Figure 44 : Lames, porte objets et lamelles.

II. Préparation du Formol

Deux différentes concentrations du Formol 36° commercialisé sont préparées afin d'assurer la fixation des organes.

II.1. Préparation du Formol en solution 5 %

1v (Formol) /4v (eau d'eau distillée)

Premièrement on verse un volume de Formol 36° dans une éprouvette graduée. Puis on lui rajoute quatre volumes d'eau distillé et on mélange délicatement.

II.2. Préparation de Formol en solution 10%

1v (Formol) /9v (eau d'eau distillée)

Premièrement on verse un volume de Formol 36° dans une éprouvette graduée. Puis on lui rajoute neuf volumes d'eau distillé et on mélange délicatement.

III. Fiche technique de la Coloration

III.1. Hématoxyline-éosine

- Réhydratation progressive dans de l'eau courante. 2 bains 3 minutes chacun.
- Coloration des lames dans l'hématoxyline pendant 30 secondes.
- Rinçage dans de l'eau courante.
- Coloration des lames dans l'Eosine pendant quelques secondes.
- Rinçage dans de l'eau courante.

Tableau II: Table pour la dilution de l'alcool (Table de Gay-Lussac) appelée aussi Table de mouillage de l'alcool.

		Concentration initiale													
		100	99	98	97	96	95	90	85	80	75	70	65	60	50
Concentration finale	95	6,5	5,15	3,83	2,53	1,25									
	90	13,25	11,83	10,43	9,07	7,73	6,41								
	85	20,54	19,05	17,58	16,15	14,73	13,33	6,56							
	80	28,59	27,01	25,47	23,95	22,45	20,95	13,79	6,83						
	75	37,58	35,9	34,28	32,67	31,08	29,52	21,89	14,48	7,2					
	70	47,75	45,98	44,25	42,54	40,85	39,18	31,05	23,14	15,35	7,64				
	65	59,37	57,49	55,63	53,81	52	50,22	41,53	33,03	24,66	16,37	8,15			
	60	72,82	70,80	68,8	65,85	64,92	63	53,65	44,48	35,44	26,47	17,58	8,76		
	55	88,6	86,42	84,28	82,16	80,06	77,99	67,87	57,9	48,07	38,32	28,63	19,02	9,47	
	50	107,44	105,08	102,75	100,44	98,15	95,89	84,71	73,90	63,04	52,43	41,73	31,25	20,47	
	45	130,26	127,67	125,11	122,57	120,06	117,57	105,34	93,30	81,38	69,54	57,78	46,09	34,46	11,41
	40	158,56	155,68	152,84	150,02	147,22	144,46	130,8	117,34	104,01	90,76	77,58	64,48	51,43	25,55
	35	194,63	191,39	188,19	185,01	181,85	178,71	163,28	148,01	132,88	117,82	102,84	87,93	73,08	43,59
	30	242,38	238,67	234,99	231,33	227,70	224,08	206,22	188,57	171,05	153,61	136,04	118,94	101,71	67,45
	25	308,9	304,52	300,18	295,86	291,56	287,28	266,12	245,15	224,3	203,61	182,83	162,21	141,65	100,73
	20	408,5	403,13	397,79	392,47	387,17	381,9	355,8	329,84	304,01	278,26	252,58	226,98	201,43	150,55
15	574,75	567,43	560,53	553,55	546,59	539,66	505,27	471	436,85	402,81	368,83	334,91	301,07	233,64	
10	907,09	896,73	886,4	876,1	865,15	855,15	804,5	753,65	702,89	652,21	601,6	551,06	500,50	399,85	

Les chiffres en noir indiquent la quantité d'eau en mL à ajouter à 100mL d'alcool de concentration initiale x (en bleu) pour obtenir la concentration désirée.

Exemple : la table indique qu'il faut ajouter 105,34 ml d'eau à 100 mL d'alcool à 90° pour obtenir de l'alcool à 45°. Attention : Le volume final est inférieur à la somme des volumes mis en jeu ! C'est le phénomène dit de « contraction de volume », variable en fonction du titre de l'alcool initial.