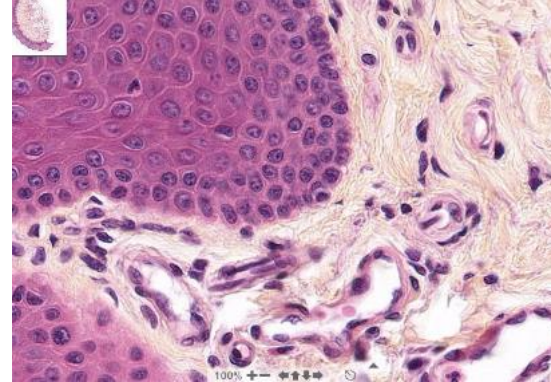


<p>FIXATION</p>	<p>-BUT : permet de préserver les structures biologiques -le plus rapidement possible après exérèse -immersion de petits morceaux de l'organe dans un grand volume de liquide fixateur -Formol recommandé -autre : paraformaldéhyde -taille du prélèvement détermine la <u>durée</u> de la fixation et le <u>volume</u> de fixateur</p>
<p>INCLUSION</p>	<p>-BUT : durcir le prélèvement pour permettre de le couper -paraffine recommandée</p> <div data-bbox="1137 651 2033 868" style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> <p>Protocole :</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) Bain d'alcool de degré croissant pour <u>déshydrater</u> le prélèvement 2) Ajout de toluène 3) Bain de paraffine à 56°C 4) Refroidissement = bloc solide, clivable </div>
<p>COUPE</p>	<p>-coupe réalisé par un microtome (<i>taille : 3-5 µm</i>)</p>
<p>COUPE EN CONGELATION</p>	<p>-BUT : préserver l'intégrité des lipides et des protéines via la congélation et non par l'inclusion (alcool néfaste pour ces structures) -coupe réalisé par un Cryo microtome</p>
<p>COLORATION</p>	<p>-BUT : augmenter les contrastes -nécessite un déparaffinage</p> <div data-bbox="1301 1161 1906 1342" style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> <p>Protocole :</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) Ajout de toluène ? 2) Bain d'alcool de degré décroissant 3) Ajout d'eau distillée 4) Ajout de colorant aqueux </div>

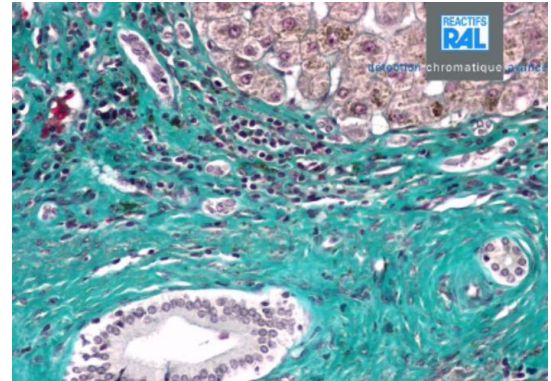
❖ **HES (=trichrome)**

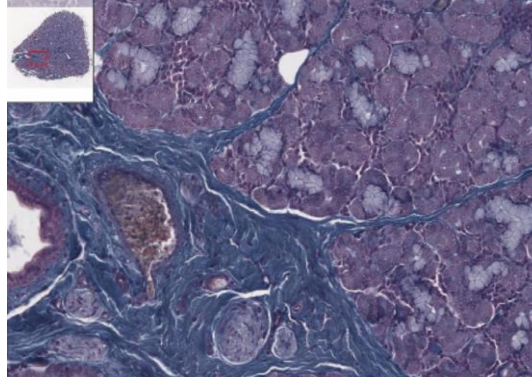
- HEMATOXYLINE : noyau en bleu-violet
- EOSINE : cytoplasme en rose
- SAFRAN : collagène en jaune-orange



❖ **Trichrome de MASSON**

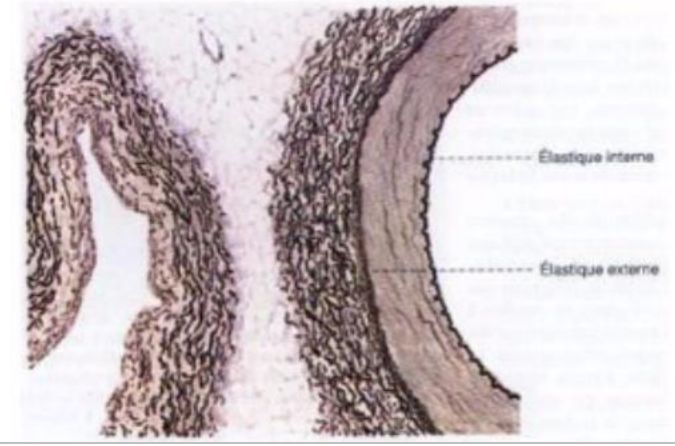
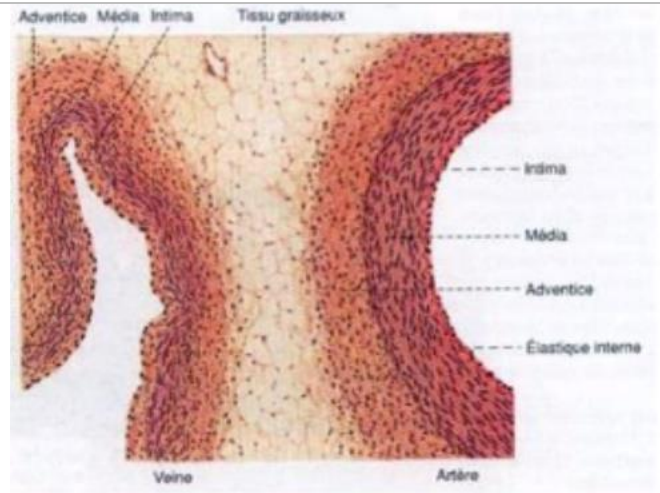
- HEMATOXYLINE : noyau en bleu-violet
- FUSCHINE : cytoplasme en rose
- VERT LUMIERE ou BLEU D'ANILINE : collagène en vert ou bleu

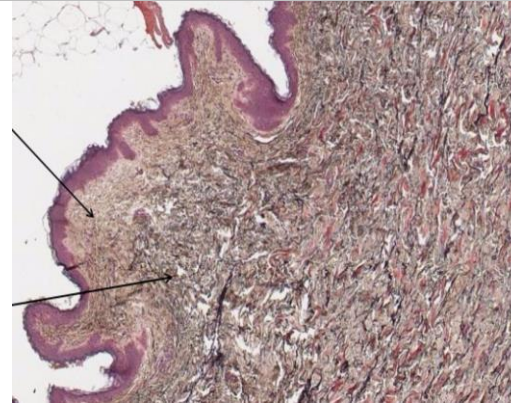




❖ **ORCEINE :**

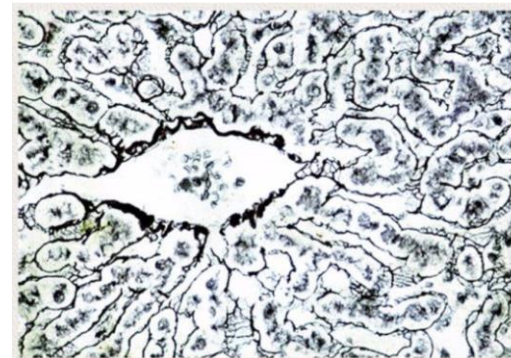
- Fibre élastique en brun-noir





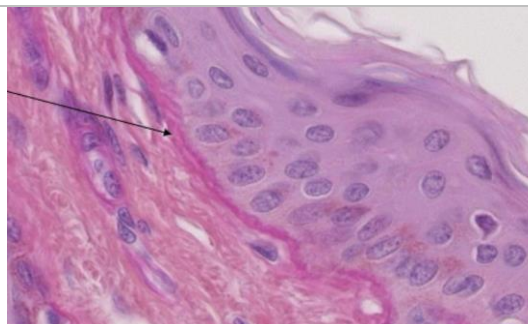
❖ **Coloration argentine :**

- Fibres de réticuline (collagène 3)



❖ **ACIDE PERIODIQUE-SCHIFF (PAS)**

- Structure glucidique en rose (*LB, mucus, glycogène*)



TECHNIQUE DE MARQUAGE

- BUT : mettre en évidence un **antigène** ou un **fragment d'acide nucléique**
- Immuno-histochimie/cytochimie/fluorescence
- hybridation in situ

Immuno-histochimie (*microscope optique*)

BUT : mettre en évidence en **antigène** (=une *protéine*) en utilisant un **anticorps** avec révélation de la réaction **Ag-Ac** à l'aide de colorants

Epitope : partie de l'antigène qui sera reconnu par l'anticorps

L'antigène peut appartenir à une protéine particulière (*cytoplasmique, membranaire ou nucléaire*)

L'antigène peut permettre de différencier des types cellulaires ou des fonctions cellulaires spécifiques

CHAPITRE 3

Ostéogénèse : ensemble des mécanismes conduisant à la formation des os			
Primaire Formation initiale sur un support non osseux = Os réticulaire (« tissé »)		Secondaire Formation sur un support osseux avec phase préalable de résorption de la matrice Os lamellaire compact ou lamellaire spongieux	
Formation « INTRACONJONCTIVE »		Formation sur un support CARTILAGINEUX	
Ossification de Membrane <i>Os plat</i>	Ossification Périostique <i>Diaphyse os long</i>	Ossification Enchondrale (<i>enchondrale</i>) <i>Epiphyse des os longs</i>	Durant la croissance L'os secondaire remplace l'os primaire
		Durant le remodelage L'os secondaire remplace l'os secondaire de même nature	



**OSSIFICATION PERIOSTIQUE =
CAS PARTICULIER D'OSSIFICATION DE MEMBRANE**

1) Ossification de membrane (=intramembranous ossification)

- ❖ **Début**e durant la gestation
- ❖ Agrégation de cellules mésenchymateuse sur un site richement vascularisé puis différenciation en cellules **ostéoprogénitrices** dont les **ostéoblastes** : formation d'un site d'**ossification primaire**
- ❖ Ostéoblastes sécrètent l'**ostéoïde** et la calcifie (*quelques jours*)
- ❖ Certains ostéoblastes sont enfermés à l'intérieur et se différencient en **ostéocytes**
- ❖ L'accumulation d'ostéoïde forme un **réseau trabéculaire** = **tissu osseux tissé** = **tissu osseux primaire**
- ❖ Le tissu mésenchymateux périphérique se condense et forme le **périoste**

⇒ **Permet la formation du diploé de l'os spongieux**

2) Ossification secondaire

- ❖ Les **ostéoclastes** migrent et résorbent le tissu osseux trabéculaire
- ❖ Les **ostéoblastes** apposent des **lamelles concentriques** autour des vaisseaux sanguin formant des **ostéons** de l'**os haversien**
 - **Cette apposition haversienne est retrouvée dans la diaphyse des os longs, au niveau des tables externes et internes mais aussi au niveau de la couche superficielle des os courts**
- ❖ L'espace au sein de l'os trabéculaire contient un tissu hématopoïétique très vascularisé qui forme la **moelle osseuse primaire**
- ❖ L'os trabéculaire sous le périoste va s'épaissir et former les **tables internes et externes** composé d'**os compact**
- ❖ L'os spongieux central va former le **diploé** qui va accueillir la **moelle rouge**
- ❖ **L'os compact et spongieux sont tous deux composés d'os lamellaire**

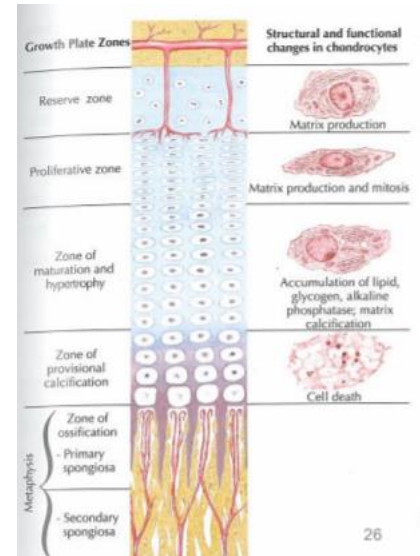
3) Ossification en(do)chondrale

- ❖ Le tissu mésenchymateux se différencie en **chondroblastes** et **chondrocytes** qui vont former du **cartilage hyalin** qui va servir de **maquette cartilagineuse**
- ❖ La diaphyse de la maquette cartilagineuse va former un **centre d'ossification** :
 - La **couche interne** du **périchondre** du cartilage va émettre des **cellules ostéoblastiques** qui vont former une **fine paroi osseuse** autour de la diaphyse cartilagineuse par un mécanisme d'**ossification endochondrale**
 - Le périchondre va se différencier (évoluer) en **périoste**
- ❖ Les chondrocytes sous la **fine paroi osseuse** (vers l'intérieur) vont s'hypertrophier et mourir
 - Ils vont sécréter du **collagène type 10** + des **facteurs angiogéniques** (VEGF) + de **l'alkaline phosphatase**
 - ◆ = **VASCULARISATION** et **OSSIFICATION de la matrice cartilagineuse**
 - Ils vont sécréter des **MMP** pour éroder le centre de la diaphyse ce qui est propice au développement d'une cavité pour la **moelle osseuse primaire**
- ❖ Des vaisseaux sanguins vont infiltrer la diaphyse à partir du périoste et apporter des cellules mésenchymateuses et ostéoprogénitrices
- ❖ La maquette cartilagineuse calcifiée est résorbée par les **ostéoclastes** tandis que les **ostéoblastes** apposent un **tissu osseux tissé = tissu osseux primaire**
- ❖ Un **centre d'ossification secondaire** va se former au niveau de **l'épiphyse**, il sera recouvert de **cartilage articulaire hyalin** à son extrémité (*au niveau de l'articulation il y a persistance du cartilage*)
- ❖ Entre les 2 centres d'ossification, à la jonction entre épiphyse et diaphyse, il va persister une **plaque épiphysaire de croissance** composé de cartilage avec des chondrocytes disposés en colonne
 - Permettant la croissance en longueur de l'os
 - Réalisant un échafaudage servant de support à la formation de l'os

❖ Cette **plaque de croissance** est remplacée par de l'**os spongieux lamellaire** chez l'adulte

⇒ **Permet la formation des épiphyses (os spongieux) et des diaphyses (os compact)**

L'ossification endochondrale permet d'individualiser **5 zones transversales histologiquement distinctes**



1) Zone de réserve :

Petit cluster de chondrocytes quiescents : aplatis ou arrondis, arrangés de manière aléatoire

2) Zone de prolifération :

Les chondrocytes sous l'action des hormones de croissance vont proliférer activement, les cellules filles sont arrangées en colonnes => formation du cartilage sérié

3) Zone de maturation et d'hypertrophie :

Les cellules et les lacunes s'agrandissent et accumulent des lipides, glycogène et de l'alkaline phosphatase

4) Zone de calcification provisoire :

Les chondrocytes meurent, formant des lacunes au sein des ostéoplastes : la moelle osseuse primaire occupe l'espace et les ostéoblastes se forment à partir des cellules mésenchymateuses. Ces derniers laissent en place des « spicules » de cartilage calcifié ?

5) Zone de calcification :

Au niveau de la métaphyse : les ostéoblastes se réunissent sur les spicules et sécrètent l'ostéoïde qui sera minéralisée

4) Ossification périostique

- ❖ Le périoste permet à la diaphyse de grandir en épaisseur = **croissance appositionnelle**
- ❖ La couche interne du périoste fournit les **ostéoblastes** nécessaires à l'ossification primaire

⇒ **Permet la formation des tables internes et externes (os compact)**

REPARATION D'UNE FRACTURE

- Nécessite un périoste intègre
- se déroule de la même manière que l'ostéogénèse embryonnaire

Plusieurs phases		
PHASE INFLAMMATOIRE	Formation d'un caillot	<p>La cavité médullaire est richement vascularisée = saignement important = formation d'un hématome</p> <p>La vascularisation des ostéons est interrompue = mort des ostéocytes = nécrose de l'os</p> <p>Infiltration de fibroblaste et de nouveaux capillaires à partir du périoste permettant d'amener des leucocytes, des monocytes et macrophages pour former un tissu de granulation</p>

	<p>Formation d'un callus (?)</p>	<p>Migration et prolifération des cellules mésenchymateuses à partir du périoste et de l'endoste</p> <p>Résorption de l'os nécrosé par les ostéoclastes</p> <p>Les chondrocytes forment un callus cartilagineux Hyalin entre les deux fragments fracturés</p>	
<p>PHASE DE REPARATION : calcification du caillot</p>		<p>Les ostéoblastes forment un tissu osseux tissé = tissu osseux primaire en remplaçant le callus cartilagineux par un processus d'ossification endochondrale</p>	
<p>PHASE DE REMODELAGE</p>		<p>Au cours du temps, le tissu osseux primaire est remplacé par du tissu osseux lamellaire : <i>nouveaux ostéons, rétablissement de la cavité médullaire, adaptation aux contraintes</i></p>	