

Sclérose tubéreuse de bourneville chez un prématuré

Ultrastructure des cellules atypiques: Présence de microvillosités

A. Probst et H. Ohnacker

Département de Neuropathologie, Institut de Pathologie, Université de Bâle, Schönbeinstrasse 40, CH-4003 Bâle/Suisse

Tuberous Sclerosis in a Premature Infant

Summary. A sporadic case of tuberous sclerosis in a stillborn infant is reported. The death at the 31st week of gestation was presumably due to the development of enormous rhabdomyomas of the heart. The typical cerebral lesions were fully developed as in patients deceased later in life. The atypical cells found in the cortical tubers demonstrated ultrastructural features of reactive astrocytes. Moreover, they showed innumerable microvillilike projections on their surface and junctional complexes, mostly of the zonula adhaerens type, reminiscent of ependymocytes. The significance of such glio-epithelial cellular features is discussed.

Key words: Tuberous sclerosis – Electron microscopy – Astrocytes – Microvilli.

Malgré le très grand nombre de cas de maladie de Bourneville publiés jusqu'ici, très peu concernent le prématuré. Il n'existe par ailleurs que peu d'études ultrastructurales des lésions cérébrales propre à cette affection et en particulier des cellules atypiques classiquement décrites dans les tubérosités corticales (Ribadeau Duma et coll., 1973; Arseni et coll., 1972; Gruner, 1969). L'ultrastructure très particulière de ces cellules dans un cas de sclérose tubéreuse exceptionnellement précoce nous a incité à en rapporter l'observation.

Observation

Mère primipare, 28 ans. Grossesse sans particularité excepté un épisode grippal sans gravité. Rupture prématurée de la poche des eaux à la 31^{ème} semaine et accouchement d'un enfant mort-né. L'examen clinique des parents ne révèle aucun des stigmates cutanés de la maladie de Bourneville. L'anamnèse familiale est vierge.

L'autopsie de l'enfant (sexe mâle, 2100 g) montre un hydrops généralisé sévère avec multiple transsudats dans les cavités séreuses. Le cœur (43 g, poids normal 14 g) est déformé par plusieurs masses tumorales de la taille d'une prune, sténosant les cavités ventriculaires (Fig. 1 a).

Le cerveau (300 g) présente, à sa surface fronto-centrale, une dizaine d'empâtements larges d'un cm au maximum, indurés et légèrement ombiliqués (Fig. 1b). La palpation révèle d'autres indurations insoupçonnées à la seule inspection. On observe de plus un grand nombre de nodules lisses et fermes proéminent à la surface des ventricules latéraux.

Méthodes

Pour la microscopie optique. Myocarde: fixation par le formol et l'alcool, inclusion en paraffine. Coloration par l'hématéine-éosine, le carmin de Best et l'acide phosphotungstique. Cerveau: fixation formolée. Inclusion en paraffine et coupes en congélation. Colorations de routine. Imprégnations par l'argent réduit de Bielschowsky et le sublimé d'or de Cajal.

Pour la microscopie électronique: Plusieurs blocs de tissu provenant du centre des tubérosités, de l'axe blanc profond et des nodules ventriculaires ont été postfixés par le tétr oxyde d'osmium à 1%, inclus en araldit. Colorations des semi-fines par le bleu de Toluidine, des ultrafines par l'acétate d'uranyl et le citrate de plomb. Examen au microscope Zeiss 9 A.

Résultats

Microscopie optique

Les tumeurs du myocarde sont constituées de cellules de grande taille dont le cytoplasme, riche en glycogène, est traversé de faisceaux myofibrillaires rayonnant autour du noyau (spider cells).

Interprétation. Rhabdomyomes congénitaux du myocarde.

Système nerveux. Aspect classique des tubérosités corticales (Fig. 1 c) constituées de populations très homogènes de cellules atypiques, arrondies, mesurant jusqu'à 50 μ de diamètre, fréquemment multinucléées et souvent largement adossées aux capillaires. Leur cytoplasme est abondant, fortement imprégné par le sublimé d'or de Cajal et l'acide phosphotungstique de Mallory. Le corps cellulaire émet un grand nombre de fins et longs prolongements souvent sous la forme de pieds vasculaires. On voit également quelques rares

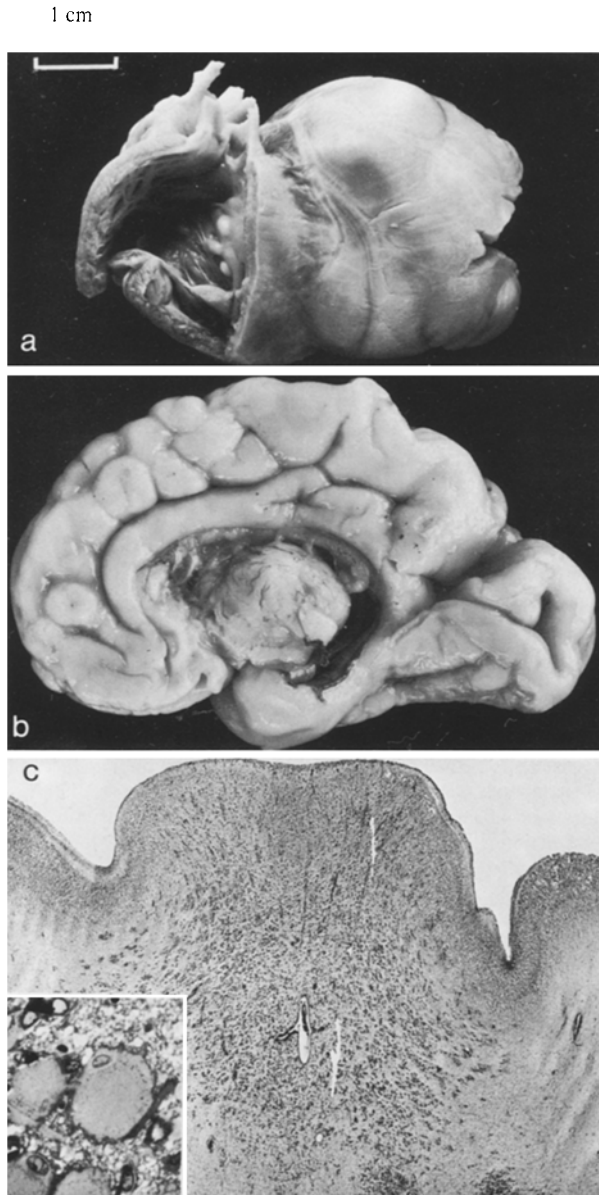


Fig. 1. **a** Masse tumorale latéro-cardiaque et nodules tumoraux du septum. **b** Tubérosités de la face interhémisphérique gauche. **c** Tubérosité. Trainées de cellules disposées en éventail. En bas à droite deux amas cellulaires hétérotopiques dans la substance blanche. PTAH, $\times 8,4$. En médaillon: Cellules atypiques. Semi-fine: Bleu de Toluidine, $\times 365$

neurones pyramidaux sans caractère monstrueux. Quelques tubérosités présentent une mince couche gliale dysplasique sous-piaie. Hors des tubérosités, le cortex cérébral est normal. L'axe blanc profond contient de multiples amas cellulaires compacts constitués des mêmes éléments atypiques que dans les tubérosités. Enfin les nodules sous-épendymaires, enfouis dans la zone germinative, renferment des éléments cellulaires plus allongés, séparés par un important réseau gliofibrillaire.

Microscopie électronique

Seule l'ultrastructure des tubérosités a pu faire l'objet d'une description, les prélèvements plus profonds

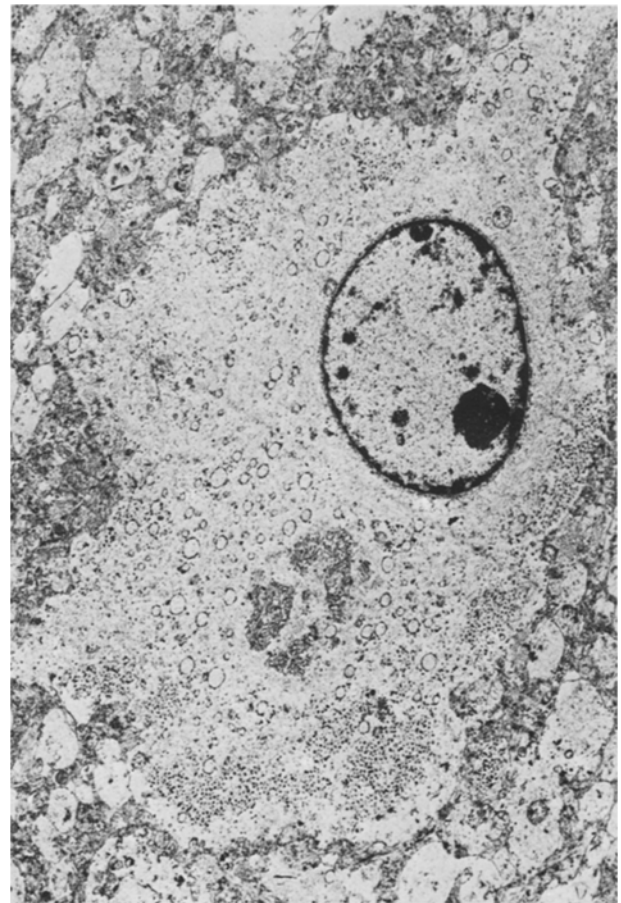


Fig. 2. Cellule atypique d'une tubérosité. Accumulation des ribosomes à la périphérie du cytoplasme. Groupes de microvillosités à l'intérieur d'invagination de la membrane cytoplasmique. On devine à gauche, à mi-hauteur, d'autres microvillosités à la surface cellulaire. $\times 5000$

montrant des altérations autolytiques trop avancées. Les grandes cellules atypiques constituent l'élément cellulaire dominant (Fig. 2). On trouve également des cellules de plus petite taille correspondant probablement à des oligodendrocytes. Le noyau des grandes cellules atypiques est généralement excentrique, ovale, souvent encoché (Fig. 4). Le nucléole est volumineux, marginal, et la chromatine nucléaire finement granulaire (Fig. 2). Le cytoplasme est abondant, peu dense aux électrons, et contient un nombre variable d'organites. Le réticulum endoplasmique est abondant, sous la forme de nombreuses vésicules dilatées, bordées de ribosomes. Les mitochondries sont souvent groupées et volumineuses; on voit enfin de gros saccules à contenu finement granulaire, bordés d'une membrane, probablement des lysosomes et quelques rares granules de glycogène monoparticulaire. Des plages étendues, principalement à la périphérie du cytoplasme, sont constituées uniquement de ribosomes

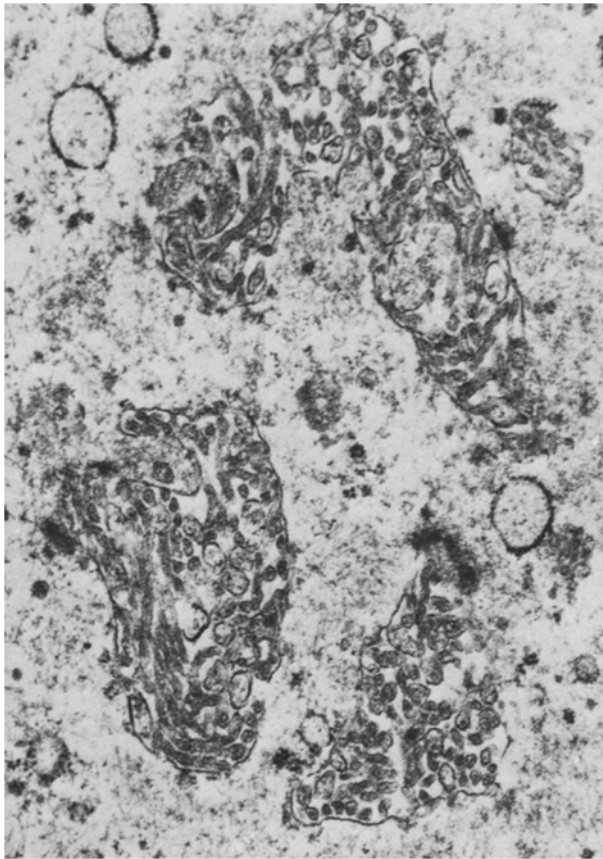


Fig. 3. Détail de la Figure 2. Microvillosités à l'intérieur d'invagination de la membrane cytoplasmique. $\times 20530$

en rosettes (Fig. 2). Un appareil de Golgi est rarement reconnaissable et toujours rudimentaire. Des centrioles sont fréquemment rencontrés à proximité du noyau cellulaire et souvent accompagnés d'une multitude de petits corpuscules satellites denses (Fig. 4). Le cytoplasme contient de multiples faisceaux de gliofilaments orientés en tous sens et séparant les organites cellulaires. Ces filaments sont particulièrement abondants dans les prolongements cellulaires venant s'appuyer contre la membrane basale des capillaires (Fig. 5). Le caractère le plus remarquable de ces cellules est cependant la présence à leur surface d'une multitude de projections tubulaires digitiformes ou de microvillosités (Figs. 3, 4, 5) d'un diamètre de $0,07$ à $0,1 \mu$ fréquemment disposées en faisceaux ou à l'intérieur d'invaginations de la surface cellulaire (Figs. 2 et 3). Coupées transversalement, ces projections montrent fréquemment à leur intérieur un point dense aux électrons, ou un ou plusieurs filaments lorsqu'elles sont coupées longitudinalement. Les membranes cytoplasmiques présentent en outre de nombreuses formations jointives de type zonulae adherentes ou desmosomes (Fig. 5).

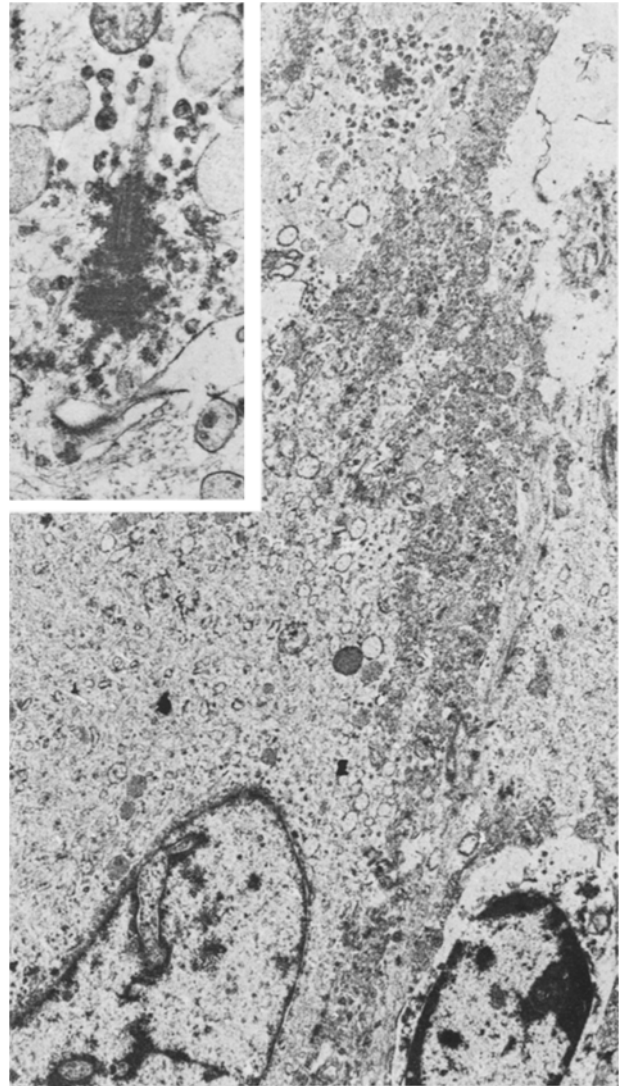


Fig. 4. Bord d'une cellule atypique montrant une prolifération dense de microvillosités (frange sombre). En haut de l'image, petit centriole coupé transversalement. $\times 5930$. En haut à gauche: 2 centrioles disposés à angle droit. $\times 24285$

Discussion

La mort foetale a probablement résulté d'une insuffisance cardiaque droite progressive due aux volumineuses tumeurs du myocarde. L'hydrops généralisé, les multiples épanchements des cavités séreuses parlent pour cette hypothèse. Des rhabdomyomes du cœur sont associés aux lésions cérébrales typiques de la sclérose tubéreuse dans environ 5% des cas (Merritt, 1963). Ce pourcentage semble cependant plus élevé chez les enfants décédés très précocement de cette affection, sans doute du fait de l'incidence de telles tumeurs sur la survie. Ainsi Thibaut et Manuelidis (1970) dans leur revue de la littérature, les ont relevées chez 11 sur 13 nouveau-nés atteints de sclérose

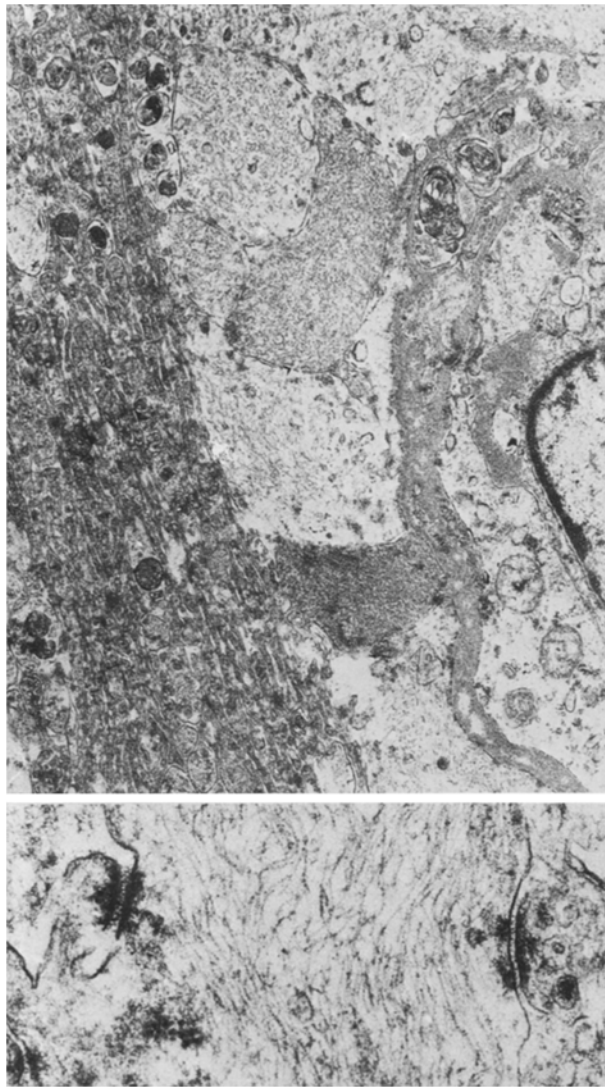


Fig. 5. En haut: Plusieurs prolongements cellulaires riches en gliofilaments, venant s'appuyer contre la membrane basale dédoublée d'un capillaire. A gauche: Projections cellulaires vilieuses disposées parallèlement. $\times 13\,570$. En bas: Prolongement cellulaire rempli de gliofilament, montrant deux formations jointives du type zonulae adhaerentes. $\times 45\,715$

tubéreuse. Eux-même rapportent le cas d'un prématuré né à la 33^{ème} semaine de gestation et décédé peu après des suites d'une pneumonose à membranes qu'ils attribuent tant à la prématurité qu'aux conséquences circulatoires des tumeurs du myocarde.

Le nombre plus élevé de tubérosités à la surface des lobes frontaux corrobore les constatations effectuées dans de grandes séries de cas (Donegani et coll., 1959), de même que l'ancienne observation de Pelizzi (1901). Ce cas montre par ailleurs que l'individualisation des tubérosités à la surface cérébrale et leur ombilication peuvent être des caractéristiques macro-

scopiques très précoces de la sclérose tubéreuse dans quelques cas, contrairement aux constatations faites par Donegani et coll. (1959). La très grande cellularité, tant des tubérosités que des masses cellulaires sous-corticales paraît être d'autre part une caractéristique des lésions très jeunes.

L'origine astrocytaire des cellules atypiques particulières aux tubérosités a été affirmée par quelques-uns (Ribadeau Dumas et coll., 1973; Foncin, 1970) sur la base de leurs caractéristiques ultrastructurales, typiques pour cette lignée et au vu du continuum morphologique entre l'astrocyte banal, également présent dans les tubérosités et la cellule atypique. Les cellules identifiées dans notre cas ont en commun avec l'astrocyte, leurs affinités tinctorielles, la présence de pieds vasculaires et de gliofilaments intracytoplasmiques typiques. Les granules de glycogène décrits dans les cellules atypiques de la sclérose tubéreuse (Gruner, 1969; Ribadeau Dumas et coll., 1973) sont caractéristiques de la lignée astrocytaire. On trouve dans notre cas des particules de glycogène β dans les prolongements des cellules atypiques en très faible quantité, probablement du fait de la fixation préalable en milieu aqueux. Les empilements lamellaires du reticulum endoplasmique décrits par Ribadeau Dumas et coll. (1973) et évoquant des corps de Nissl, manquent ici totalement. Un appareil de Golgi est rarement observé et généralement rudimentaire. L'abondance du cytoplasme, l'intense production de gliofilaments, l'augmentation du nombre des mitochondries et des ribosomes, les nombreux centrioles, le gros nucléole marginal indiquent par ailleurs une activité métabolique accrue de ces cellules; ces caractéristiques ultrastructurales sont également celles de l'astrocyte réactif (Foncin, 1970) et de l'astrocyte gémistocytique tumoral (Duffel et coll., 1963); microvillosités et structures jonctionnelles de type zonulae adhaerentes sont d'autre part typiques de la cellule épendymaire normale (Brightman et Palay, 1963). Elles sont également décrites dans les tumeurs dérivées de ce type cellulaire, à savoir l'épendymome (Russel et Rubinstein, 1977) et le subépendymome (Fu et coll., 1974) mais n'ont, à notre connaissance, pas été mentionnées dans les précédentes études ultrastructurales des lésions corticales et en particulier des nodules tumoraux sous-épendymaires de la sclérose tubéreuse. La formation de pieds vasculaires venant s'appuyer sur les membranes basales des capillaires et la production de faisceaux de filaments intracytoplasmiques, indistinguables de ceux de l'astrocyte, sont également des caractéristiques de la cellule épendymaire normale (Brightman et Palay, 1963) ou tumorale (Raimondi, 1966). Il faut cependant signaler l'absence de formations ciliaires dans les cellules de notre cas, alors qu'elles sont caractéristiques de l'épendymocyte à sa

face ventriculaire. Il se peut cependant que les nombreux centrololes observés constituent des ébauches de cils (Meller et Wechsler, 1963).

En conclusion, les gros éléments cellulaires atypiques peuplant les tubérosités nous paraissent dotés de caractéristiques morphologiques ambiguës permettant de les apparenter tant à des astrocytes de type réactif ou tumoral qu'à des cellules de la lignée épendymaire. On peut supposer que de telles cellules sont l'expression d'une anomalie de la différenciation des cellules matricielles du tube neural primitif à un stade où l'élément cellulaire précurseur de la lignée astrocytaire et épendymaire ne s'est pas encore différencié dans l'un ou l'autre type cellulaire. Ce stade correspondrait à celui du glioblaste selon Fujita (1964, 1966). Il est possible que dans d'autres cas de sclérose tubéreuse une anomalie encore plus précoce de la différenciation des cellules matricielles rendent compte de l'ambiguïté glio-neuronale des cellules monstrueuses si fréquemment décrites dans la littérature.

Il ne nous a malheureusement pas été possible de comparer les cellules atypiques des tubérosités avec celles des masses hétérotopiques de la substance blanche et des « tumeurs » sous-épendymaires. On peut cependant supposer qu'il s'agit de cellules morphologiquement voisines comme l'ont établi Ribadeau Dumas et coll. (1973) sur du matériel biopsique, mais ayant migré à plus ou moins grande distance de la zone matricielle.

Bibliographie

Arseni, C., Alexianu, M., Horvat, L., Alexianu, D., Petrovici, A. L.: Fine structure of atypical cells in tuberous sclerosis. *Acta neuropath.* **21**, 185–193 (1972)

- Brightman, M. W., Palay, S. L.: The fine structure of ependyma in the brain of the rat. *J. Cell Biol.* **19**, 413–439 (1963)
- Donegani, G., Grattarola, F. R., Wildi, E.: Contribution à l'étude de la maladie de Bourneville. Examen clinique et anatomique de 10 cas. 2ème Colloque intern. sur les malformations congénitales de l'encéphale « les phacomatoses », pp. 359–419. Paris: S.P.E.I. 1963
- Duffell, D., Faber, L., Chou, S., Hartman, J. F., Nelson, E.: Electron microscopic observations on astrocytomas. *Amer. J. Pathol.* **43**, 439 (1963)
- Foncin, J. F.: Pathologie ultrastructurale de la glie chez l'homme. 6ème Congrès International de Neuropathologie, pp. 337–391. Paris: Masson 1970
- Fu, Y. S., Chen, A. T. L., Kay, S., Young, H. F.: Is subependymoma (subependymal glomerate astrocytoma) an astrocytoma or ependymoma? A comparative ultrastructural and tissue culture study. *Cancer* **34**, 1992–1993 (1974)
- Fujita, H., Fujita, S.: Electronmicroscopic studies on the differentiation of the ependymal cells and the glioblast in the spinal cord of domestic fowl. *Z. Zellforsch.* **64**, 262–272 (1964)
- Fujita, S.: Applications of light and electronmicroscopic autoradiography to the study of cytogenesis of the forebrain. In: Evolution of the forebrain. Stuttgart: Thieme 1966
- Gruner, J. E.: Histopathologie fine de la maladie de Bourneville. *Acta Neurol. (Napoli)* **24**, 334 (1969)
- Meller, K., Wechsler, W.: Elektronenmikroskopische Befunde am Ependym des sich entwickelnden Gehirns von Hühnerembryonen. *Acta Neuropath. (Berl.)* **3**, 609–626 (1964)
- Merrit, H. H.: Textbook of Neurology, ed. 3, p. 444. Philadelphia: Lea and Febiger 1963
- Raimondi, J. A., Mullan, S., Evans, J. P.: Human brain tumors: An electron microscopic study. *J. Neurosurg.* **19**, 731–753 (1962)
- Ribadeau Dumas, G. L., Poirier, G., Escourolle, R.: Etude ultrastructurale des lésions cérébrales de la sclérose tubéreuse de Bourneville. A propos d'un cas. *Acta neuropath. (Berl.)* **25**, 259–270 (1973)
- Russel, D., Rubinstein, L. J.: Pathology of tumors of the nervous system. Ed. E. Arnold. Fourth edition. London 1977
- Thibault, H. J., Manuelidis, E. E.: Tuberous sclerosis in a premature infant. Report of a case and review of the literature. *Neurology* **20**, 139–146 (1970)

Reçu le juillet 1, 1977 | Accepté le juillet 12, 1977