

VETAGRO SUP
CAMPUS VÉTÉRINAIRE DE LYON

Année 2016 - Thèse n°057

***BIOMARQUEURS DE LA FIBROSE HÉPATIQUE CHEZ LE
CHIEN: MISE EN PLACE D'UN SCORE CARACTÉRISANT LA
FIBROSE HÉPATIQUE À PARTIR DE L'ÉTUDE DE
BIOMARQUEURS HÉPATIQUES CHEZ 61 CHIENS***

THESE

Présentée à l'UNIVERSITÉ CLAUDE-BERNARD - LYON I
(Médecine - Pharmacie)
et soutenue publiquement le 20 octobre 2016
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

TOUZET Chloé
Née le 1^{er} décembre 1991
à *Marseille*



**VETAGRO SUP
CAMPUS VETERINAIRE DE LYON**

Année 2016 - Thèse n°057

***BIOMARQUEURS DE LA FIBROSE HÉPATIQUE CHEZ LE
CHIEN: MISE EN PLACE D'UN SCORE CARACTÉRISANT LA
FIBROSE HÉPATIQUE À PARTIR DE L'ÉTUDE DE
BIOMARQUEURS HÉPATIQUES CHEZ 61 CHIENS***

THESE

Présentée à l'UNIVERSITÉ CLAUDE-BERNARD - LYON I
(Médecine - Pharmacie)
et soutenue publiquement le 20 octobre 2016
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

TOUZET Chloé
Née le 1^{er} décembre 1991
à *Marseille*



LISTE DES ENSEIGNANTS DU CAMPUS VÉTÉRIINAIRE DE LYON

Mise à jour le 09 juin 2015

Civilité	Nom	Prénom	Unités pédagogiques	Grade
M.	ALOGNINOUIWA	Théodore	UP Pathologie du bétail	Professeur
M.	ALVES-DE-OLIVEIRA	Laurent	UP Gestion des élevages	Maître de conférences
Mme	ARCANGIOLI	Marie-Anne	UP Pathologie du bétail	Maître de conférences
M.	ARTOIS	Marc	UP Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
M.	BARTHELEMY	Anthony	UP Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences Contractuel
Mme	BECKER	Claire	UP Pathologie du bétail	Maître de conférences
Mme	BELLUCO	Sara	UP Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie	Maître de conférences
Mme	BENAMOU-SMITH	Agnès	UP Equine	Maître de conférences
M.	BENOIT	Etienne	UP Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	BERNY	Philippe	UP Biologie fonctionnelle	Professeur
Mme	BERTHELET	Marie-Anne	UP Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
Mme	BONNET-GARIN	Jeanne-Marie	UP Biologie fonctionnelle	Professeur
Mme	BOULOCHER	Caroline	UP Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
M.	BOURDOISEAU	Gilles	UP Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
M.	BOURGOIN	Gilles	UP Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
M.	BRUYERE	Pierre	UP Biotechnologies et pathologie de la reproduction	Maître de conférences
M.	BUFF	Samuel	UP Biotechnologies et pathologie de la reproduction	Maître de conférences
M.	BURONFOSSE	Thierry	UP Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	CACHON	Thibaut	UP Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
M.	CADORE	Jean-Luc	UP Pathologie médicale des animaux de compagnie	Professeur
Mme	CALLAIT-CARDINAL	Marie-Pierre	UP Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
M.	CAROZZO	Claude	UP Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
M.	CHABANNE	Luc	UP Pathologie médicale des animaux de compagnie	Professeur
Mme	CHALVET-MONFRAY	Karine	UP Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	COMMUN	Loic	UP Gestion des élevages	Maître de conférences
Mme	DE BOYER DES ROCHES	Alice	UP Gestion des élevages	Maître de conférences
Mme	DELIGNETTE-MULLER	Marie-Laure	UP Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	DEMONT	Pierre	UP Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
Mme	DESJARDINS PESSON	Isabelle	UP Equine	Maître de conférences Contractuel
Mme	DJELOUADJI	Zorée	UP Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
Mme	ESCRIOU	Catherine	UP Pathologie médicale des animaux de compagnie	Maître de conférences
M.	FAU	Didier	UP Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Professeur
Mme	FOURNEL	Corinne	UP Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie	Professeur
M.	FREYBURGER	Ludovic	UP Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
M.	FRIKHA	Mohamed-Ridha	UP Pathologie du bétail	Maître de conférences
Mme	GILOT-FROMONT	Emmanuelle	UP Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
M.	GONTHIER	Alain	UP Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
Mme	GRAIN	Françoise	UP Gestion des élevages	Professeur
M.	GRANCHER	Denis	UP Gestion des élevages	Maître de conférences
Mme	GREZEL	Delphine	UP Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
M.	GUERIN	Pierre	UP Biotechnologies et pathologie de la reproduction	Professeur
Mme	HUGONNARD	Marine	UP Pathologie médicale des animaux de compagnie	Maître de conférences
M.	JUNOT	Stéphane	UP Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
M.	KECK	Gérard	UP Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	KODJO	Angeli	UP Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
Mme	LAABERKI	Maria-Halima	UP Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
M.	LACHERETZ	Antoine	UP Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
Mme	LAMBERT	Véronique	UP Gestion des élevages	Maître de conférences
Mme	LATTARD	Virginie	UP Biologie fonctionnelle	Maître de conférences
Mme	LE GRAND	Dominique	UP Pathologie du bétail	Professeur
Mme	LEBLOND	Agnès	UP Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
Mme	LEFRANC-POHL	Anne-Cécile	UP Equine	Maître de conférences
M.	LEPAGE	Olivier	UP Equine	Professeur
Mme	LOUZIER	Vanessa	UP Biologie fonctionnelle	Maître de conférences
M.	MARCHAL	Thierry	UP Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie	Professeur
M.	MOUNIER	Luc	UP Gestion des élevages	Maître de conférences
M.	PEPIN	Michel	UP Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
M.	PIN	Didier	UP Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie	Maître de conférences
Mme	PONCE	Frédérique	UP Pathologie médicale des animaux de compagnie	Maître de conférences
Mme	PORTIER	Karine	UP Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
Mme	POUZOT-NEVORET	Céline	UP Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
Mme	PROUILLAC	Caroline	UP Biologie fonctionnelle	Maître de conférences
Mme	REMY	Denise	UP Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Professeur
Mme	RENE MARTELLET	Magalie	UP Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences stagiaire
M.	ROGER	Thierry	UP Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Professeur
M.	SABATIER	Philippe	UP Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	SAWAYA	Serge	UP Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
M.	SCHRAMME	Serge	UP Equine	Professeur associé
Mme	SEGARD	Emilie	UP Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences Contractuel
Mme	SERGENTET	Delphine	UP Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
Mme	SONET	Juliette	UP Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences Contractuel
M.	THIEBAULT	Jean-Jacques	UP Biologie fonctionnelle	Maître de conférences
M.	TORTEREAU	Antonin	UP Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie	Maître de conférences stagiaire
M.	VIGUIER	Eric	UP Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Professeur
Mme	VIRIEUX-WATRELOT	Dorothee	UP Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie	Maître de conférences Contractuel
M.	ZENNER	Lionel	UP Santé Publique et Vétérinaire	Professeur

Remerciements

À Monsieur le Professeur Fabien Zoulim

De la faculté de médecine de Lyon,
Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury de thèse,
Mes hommages respectueux.

À Monsieur le Professeur Jean-Luc Cadoré

Du campus vétérinaire de Lyon de VetAgro Sup,
Pour avoir accepté d'encadrer ce travail,
Pour sa gentillesse, sa disponibilité, et ses précieux conseils,
Pour sa façon de dire les choses tout en subtilité,
Qu'il trouve ici le témoignage de mon admiration et de mon plus profond respect.

À Monsieur le Professeur Thierry Marchal,

Du campus vétérinaire de Lyon de VetAgro Sup,
Pour avoir éveillé mon intérêt pour la matière qu'il enseigne,
Pour avoir très aimablement accepté de relire et d'évaluer ce travail,
Sincères remerciements.

À Monsieur le Docteur Alexis Lecoindre,

Résident à l'école vétérinaire de Lyon (VetAgro Sup),
Pour m'avoir proposé d'étudier un sujet passionnant,
Qu'il trouve ici l'expression de ma sincère gratitude.

À tous les contributeurs de cette étude : P. Lecoindre et la clinique vétérinaire des Cerizioz, M. Chevallier et le laboratoire Biomnis, A. Pagnon et le laboratoire Novotec, G. Benchekroun et le département de médecine interne de l'école nationale vétérinaire d'Alfort, J. Hernandez, R. Oliveira, et le centre hospitalier vétérinaire de Frégis, J.L. Cadoré, M. Hugonnard, et le département de médecine interne de VetagroSup, B.Rannou et le laboratoire de biologie médicale de VetagroSup, V. Miette, l'équipe de la société Echosens, et plus particulièrement Mme Marie Destro,
Pour m'avoir transmis les résultats de votre étude concernant l'élaboration du Fibrotest
Sincères remerciements.

À Mesdames les Docteurs Juliette Sonnet et Emilie Segard du service d'imagerie de VetAgro Sup, **À Monsieur le Docteur Antonin Tortereau** du service d'anatomie pathologique de VetAgro Sup, **À Monsieur le Professeur Didier Pin,** du service de dermatologie de VetAgro Sup,
Pour m'avoir permis d'illustrer cette thèse,
Sincères remerciements.

Table des matières

Table des figures	9
Table des tableaux.....	11
Table des annexes.....	12
Introduction.....	15
I. Définition, pathogénie et identification de la fibrose hépatique	17
I.1. DÉFINITION DE LA FIBROSE HÉPATIQUE	17
I.2 PATHOGÉNIE DE LA FIBROSE HÉPATIQUE.....	17
I.2.1 Atteinte de la membrane hépatocellulaire et cytolysse des hépatocytes.....	17
I.2.2 Inflammation et activation des cellules de Ito	18
I.2.3 Fibrose hépatique.....	19
I.2.4 Principaux médiateurs de la fibrogenèse hépatique.....	20
I.2.4 Cirrhose hépatique.....	21
I.2.5 Résolution	22
I.3 IDENTIFICATION ET CARACTERISATION DE LA FIBROSE HEPATIQUE PAR HISTOLOGIE SUR BIOPSIES	23
I.3.1 Indications de la réalisation de biopsies hépatiques.....	23
I.3.2 Monitoring de l'animal et anesthésie	23
I.3.3 Méthodes de prélèvement	26
I.3.4 Examen histologique	29
I.3.6 Score histologique quantitatif : la morphométrie	42
I.3.7 Intérêt et limites des scores histologiques	42
II. Etude clinique des hépatites chroniques chez le chien.....	45
II.1 PRESENTATION CLINIQUE.....	45
II.1.1 Signes précoces non spécifiques.....	45
II.1.1 Signes tardifs plus spécifiques.....	45
II.2 DIAGNOSTIC	46
II.2.1 Biochimie	46
II.2.2 Imagerie	47
II.2.3 Histologie.....	51

II.3 ETIOLOGIE ET EPIDEMIOLOGIE DES HEPATITES CHRONIQUES.....	52
II.3.1 Hépatite Chronique Idiopathique	52
II.3.2 Hépatites chroniques raciales avec accumulation de cuivre.....	52
II.3.2 Hépatites chroniques raciales sans accumulation de cuivre.....	56
II.3.3 Hépatites chroniques lobulaires disséquantes	57
II.3.4 Hépatites infectieuses	57
II.3.5 Hépatite à cellules acidophiles	59
II.3.6 Hépatites chroniques médicamenteuses	59
II.4 TRAITEMENT DES HEPATITES CHRONIQUES.....	61
II.4.1. Contrôle de l'accumulation hépatique en cuivre.....	62
II.4.2. Stimulation de l'excrétion des acides biliaires	62
II.4.3 Molécules antifibrosantes.....	63
II.4.4 Molécules antioxydantes.....	64
II.5 TRAITEMENT DES COMPLICATIONS DES HÉPATITES CHRONIQUES.....	64
II.6 PRONOSTIC	65
III. Méthodes non invasives d'exploration de la fibrose hépatique	67
III.1. BIOMARQUEURS HEPATIQUES	67
III.1.1. Biomarqueurs de classe 1 : composants de la matrice extracellulaire qui reflètent l'activité fibrogénique et fibrolytique	67
III.1.2 Biomarqueurs de classe 2 : biomarqueurs indirects de la fibrose hépatique reflétant l'activité fonctionnelle hépatique	70
III.2 INTÉRÊTS ET LIMITES DES BIOMARQUEURS.....	76
III.3 TESTS DISPONIBLES EN MEDECINE HUMAINE UTILISANT DES BIOMARQUEURS	77
IV. Etude de biomarqueurs hépatiques	81
IV.1 RECRUTEMENT DES CANDIDATS	81
IV.1 MATÉRIEL ET MÉTHODES	82
IV.2 CHOIX DES BIOMARQUEURS ETUDIÉS.....	84
IV.3 ANALYSE STATISTIQUE	85
IV.4 RÉSULTATS.....	86
IV.5 DISCUSSION	91
Conclusion	97
Annexes	101
Bibliographie.....	115

Table des figures

Figure 1 : Représentation schématique du mécanisme d'initiation des hépatites chroniques	18
Figure 2 : Représentation schématique de la structure tissulaire hépatique en conditions physiologiques et lors de fibrose hépatique.....	19
Figure 3 : Matériel de biopsie par abord échoguidé.....	28
Figure 4 : Représentation schématique de l'aspect microscopique d'un lobule hépatique	31
Figure 5 : Infiltrats inflammatoires au sein du parenchyme hépatique.....	32
Figure 6 : Nécrose et apoptose hépatocytaires	33
Figure 7 : Aspect histologique d'une hépatite cuprique	33
Figure 8 : Fibrose périportale et fibrose centro-lobulaire	34
Figure 9 : Aspect histologique d'une hépatite lobulaire disséquante	35
Figure 10 : Détermination de l'activité nécro-inflammatoire lors d'hépatite chronique (BATTIS, 1995).....	40
Figure 11 : Détermination des lésions fibreuses lors d'hépatite chronique (BATTIS, 1995).....	40
Figure 12 : Illustration de l'influence de la taille et de la localisation du prélèvement dans le cadre de l'interprétation de la biopsie.....	42
Figure 13 : Les différents stades de la cirrhose (GARCIA-TSAO, 2010).....	43
Figure 14 : Clichés radiographiques représentant une microhépatie (flèche) en vue latérale droite chez un chien Westie adulte (1) et un épanchement abdominal en vue ventro-dorsale chez une chienne de race Spitz de 4 ans (2). (Service d'imagerie de VetagroSup).....	48
Figure 15 : Clichés échographiques du foie d'une chienne Jack Russell terrier avec un foie sain (1) et d'une chienne Jack Russel terrier de 7 ans atteinte de cirrhose hépatique (2).....	49
Figure 16 : Cliché échographique d'un shunt hépatique porto-systémique acquis secondairement à une hypertension portale chez un chien de race Golden Retriever de 1 an (Service d'imagerie de VetagroSup).....	50
Figure 17 : Récapitulatif des outils du diagnostic des hépatites chroniques.....	51
Figure 18 : Conversion d'un résultat de Fibrotest® selon les classifications histologiques METAVIR, de Knodell, et d'Ishak.....	77
Figure 19 : Conversion d'un résultat de Fibrotest® selon le score Metavir	77
Figure 20 : Conversion d'un résultat d'Actitest® selon les classifications histologiques METAVIR, de Knodell, et d'Ishak.....	78
Figure 21 : Conversion d'un résultat de Fibromètre® selon le score METAVIR.....	79
Figure 22 : Conversion d'un résultat d'Hépascore®, d'après ADAMS, 2005.....	79

Figure 23 : Fragment biopsié après coloration au rouge Sirius	83
Figure 24 : Fragment biopsié après traitement par un logiciel de traitement d'images	83
Figure 25 : Répartition des races au sein de la population canine étudiée.	86
Figure 26 : Résultats de l'analyse histologique semi-quantitative : distribution du stade de fibrose exprimé selon le score METAVIR pour les 61 individus de l'étude. 86	
Figure 27 : Résultats de l'étude des biomarqueurs sanguins mesurés chez les 61 chiens inclus dans l'étude : sensibilité et spécificité par rapport aux mesures morphométriques.	88
Figure 28 : courbe de fonction d'efficacité du récepteur (ROC) représentant la précision diagnostique pour la fibrose, des marqueurs AIAT et PAI seuls, et du score de Fibrose élaboré	89
Figure 29 : « bean plots » représentant la densité de fibrose de chaque échantillon et le score de fibrose obtenu.....	90
Figure 30 : Modèle d'une feuille de résultats d'un test FibroVet™ screening	92
Figure 31 : Diagramme de dépistage de la présence de fibrose hépatique utilisant le test FibroVet™ screening.....	93

Table des tableaux

Tableau I : Liste non exhaustive de médiateurs de la fibrogenèse hépatique et de leurs rôles (CENTER, 1996 ; FAVIER, 2009 ; FRIEDMAN, 2011)	20
Tableau II : Valeurs usuelles du bilan hématologique chez le chien (The Merck Veterinary manual, 2015a).....	24
Tableau III : Caractéristiques des différentes voies d'abord pour la réalisation de biopsies hépatiques	29
Tableau IV : Colorations disponibles pour l'interprétation histologique de biopsies hépatiques	29
Tableau V : Classification de Knodell modifiée (KNODELL, 1981 ; DESMET, 1994)	36
Tableau VI : Classification d'Ishak, (ISHAK, 1995).....	37
Tableau VII : Classification METAVIR (BEDOSSA, 1996).....	38
Tableau VIII : Classification de Scheuer (THEISE, 2007).....	39
Tableau IX : Score de Laennec (RASTOGI, 2013).....	41
Tableau X : Équivalences de différents scores histologiques semi-quantitatifs simplifiés.....	41
Tableau XI : Récapitulatif des principales hépatites chroniques raciales	57
Tableau XII : Liste non exhaustive des biomarqueurs de classe 1 pouvant être recherchés, et des prélèvements à réaliser (GRESSNER, 2014)	69
Tableau XIII : Récapitulatif des principaux marqueurs de l'intégrité des hépatocytes : valeurs usuelles chez le chien, méthodes de dosage, interprétation..... (The Merck Veterinary Manual, 2015b ; STOCKHAM, 2008 ; TENNANT, 2008)	73
Tableau XIV : Récapitulatif des principaux marqueurs de la fonction hépatique et valeurs usuelles chez le chien (The Merck Veterinary Manual, 2015b).....	76
Tableau XV : Résultats de l'étude des biomarqueurs sanguins mesurés chez les 61 chiens inclus dans l'étude : sensibilité et spécificité par rapport aux mesures morphométriques.....	87

Table des annexes

Annexe 1 - Symptomatologie des hépatites chroniques	99
Annexe 2 - Traitement symptomatique des complications des hépatites chroniques.....	105
Annexe 3 - Représentations graphiques des résultats de l'étude expérimentale	108

Table des abréviations

AIAT : Alanine Amino-Transférase	Hz : Hertz
aPTT : activated Partial Thromboplasin Time (temps de céphaline activée)	j : jour(s)
AsAT : Aspartate Amino-Transférase	kg : kilogramme(s)
AUROC : Area Under the Receiver Operating Characteristic	L : Litre(s)
BID : Bis In Die	LDL : Low Density Lipoprotein ou apolipoprotéine A2
BMP 7 : Bone Morphogenetic Protein 7	mg : milligramme(s)
C (°C) : degrés Celsius	MHz : Mega Hertz
CAV-1 : Canine AdénoVirus de type 1	mL : milliLitre(s)
CCN2 = CTGF	mm : millimètre(s)
CD3 : Cluster de Différenciation 3	mmHg : millimètres de mercure
cm : centimètre(s)	µg : microgramme(s)
CRP : Protéine C-Réactive	PAI : Phosphatases Alcalines
CSFs : Colony Stimulating Factors	PCR : Polymerase Chain Reaction (réaction de polymérisation en chaîne)
CTGF : Connective Tissue Growth Factor	PMN : Piece Meal Necrosis (nécrose d'interface)
dL : déciLitre(s)	PO : Per Os
DWL : Dry Weight Liver (matière sèche de tissu hépatique)	PT : Prothrombin Time (temps de quick)
ELISA : Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay	PUPD : PolyUro PolyDipsie
G : Gauge	PV : Poids Vif
g : gramme(s)	SDH : Sorbitol DésHydrogénase
GEMI : Groupe d'Etude en Médecine Interne	Se : Sensibilité
GDH : Glutamate DésHydrogénase	Sp : Spécificité
GGT : Gamma Glutamyl Transférase	TGF-β : Tumor Growth Factor bêta
h : heure(s)	TNF : Tumor Necrosis Factor
HDL : High Density Lipoprotein ou apolipoprotéine A1	TT : Temps de Thrombine
Ht : Hématocrite	U : Unités
HVPG : Gradient de Pression Veineuse Hépatique	UI : Unités Internationales
	V : Volume
	VH : Hémorragie(s)

Introduction

Les hépatites chroniques sont fréquentes chez le chien par comparaison au chat, ce qui motive la réduction de l'étude à cette espèce. Elles correspondent à de multiples maladies hépatiques hétérogènes, dont les causes sont variées. Dans la plupart des cas, l'étiologie n'est pas identifiée, contrairement aux hépatites humaines dont les causes sont généralement connues (hépatites virales, alcoolisme). Actuellement, la prévalence des hépatites chroniques du chien est de 12% (WATSON, 2010), mais elles restent sous-diagnostiquées.

Les hépatites chroniques sont caractérisées par une présentation histologique semblable, bien que leurs causes soient variées. Le groupe de recherche sur les maladies hépatiques et la standardisation des pathologies créé par la World Small Animal Veterinary Association (WSAVA) définit les hépatites chroniques du chien par l'apparition d'un infiltrat inflammatoire dans les zones portes et d'une apoptose ou d'une nécrose hépatocytaire, avec des processus de régénération et/ou de fibrose, évoluant depuis au moins 4 à 6 mois.

Très rapidement, l'inflammation hépatique est suivie d'une fibrose précoce, conduisant à une cirrhose irréversible à terme. Il importe donc de reconnaître une hépatite chronique le plus précocement possible, et dans la mesure du possible d'en déterminer la cause afin de mettre en place un traitement adéquat. Un suivi est alors nécessaire afin d'évaluer la réponse au traitement et de suivre l'évolution des lésions.

Actuellement, la seule méthode reconnue pour la caractérisation du degré de fibrose hépatique est une méthode invasive : l'histologie. Aucun consensus sur l'évaluation du degré de fibrose hépatique par l'utilisation de méthodes non invasives n'est validé en médecine vétérinaire. L'objectif de ce travail est de déterminer quels biomarqueurs peuvent être pris en compte dans l'établissement d'un score, afin d'évaluer de façon fiable le degré de fibrose hépatique en vue du suivi des hépatites chroniques par des méthodes non invasives. Le terme d'hépatite chronique employé dans ce document désignera uniquement les hépatites chroniques associées à des processus de fibrose.

Dans un premier temps, nous effectuerons un bilan des connaissances disponibles en médecine vétérinaire et en médecine humaine permettant d'identifier la présence de fibrose hépatique. Puis, nous étudierons la caractérisation du degré de fibrose hépatique par des biomarqueurs chez 61 chiens atteints d'hépatite chronique, la référence choisie étant la détermination du degré de fibrose par analyse histologique de biopsies de foie.

I. Définition, pathogénie et identification de la fibrose hépatique

I.1. DÉFINITION DE LA FIBROSE HÉPATIQUE

Lors de lésions hépatiques, le remplacement des zones lésées peut se faire soit par des cellules soit par de la matrice extracellulaire. Lorsque la régénération cellulaire est limitée par une lésion de la lame bordante, une extension trop importante des lésions, ou une altération de la matrice, il y a apparition de fibrose hépatique, définie par une accumulation anormale de constituants de matrice extracellulaire dans le parenchyme hépatique. La quantité de matrice extracellulaire produite peut atteindre jusqu'à 6 fois la norme ; la qualité et la topographie de dépôt du collagène sont modifiées.

La fibrose hépatique correspond donc à une séquelle de lésions hépatocellulaires, de répartition focale ou diffuse, caractérisée par une augmentation de la quantité de la matrice extracellulaire hépatique et d'une altération de sa qualité.

I.2 PATHOGÉNIE DE LA FIBROSE HÉPATIQUE

I.2.1 Atteinte de la membrane hépatocellulaire et cytolysse des hépatocytes

Le point de départ est toujours une atteinte de la membrane hépatocellulaire conduisant à la destruction de l'hépatocyte. Le mécanisme sera similaire quelle que soit l'origine de l'atteinte (virale, bactérienne, médicamenteuse, toxique, immune, métabolique, secondaire à des troubles organiques ou systémiques). La plupart du temps chez le chien, la cause n'est pas identifiée. (CENTER, 1996 ; FRIEDMAN, 2011)

Suite à la destruction initiale de l'hépatocyte, des antigènes hépatocytaires sont exposés et captés par les cellules de Kupffer présentatrices d'antigènes, puis présentés aux lymphocytes T quiescents, ce qui aboutit à leur activation. Les lymphocytes T activés vont alors reconnaître les antigènes hépatocytaires comme des agents étrangers à l'organisme, et activer la production d'anticorps et le recrutement des médiateurs de l'inflammation. Des hépatocytes sains sont alors détruits, et le phénomène de lyse hépatique se retrouve amplifié du fait de l'exposition de nouveaux antigènes hépatocytaires.

Les réponses immunes jouent donc un grand rôle dans l'installation des maladies hépatiques chroniques. La formation de complexes immuns peut d'ailleurs occasionner des manifestations extra-hépatiques telles que des glomérulonéphrites, des arthrites, des lupus érythémateux systémiques, ou des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. De nombreux auto-anticorps sont retrouvés en association avec des maladies hépatiques chroniques, sans toutefois qu'ils ne constituent des indicateurs de l'intensité de la maladie hépatique - notamment car ils ne sont pas tissu-spécifiques - et bien qu'ils interviennent dans l'installation de la maladie hépatique, leur rôle dans son entretien n'est pas clairement défini.

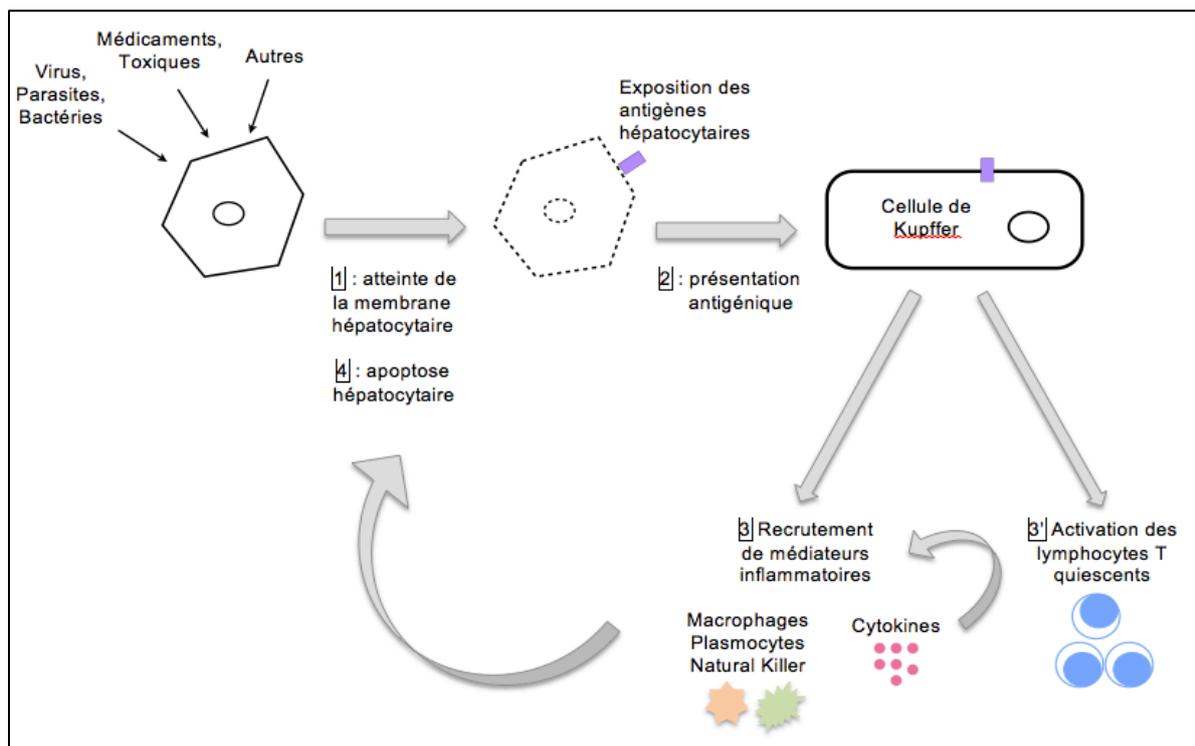


Figure 1 : Représentation schématique du mécanisme d'initiation des hépatites chroniques

Ce mécanisme est valable dans le cadre de la pathogénie des hépatites chroniques. Dans le foie sain, la réponse à médiation immune face à l'arrivée d'antigènes étrangers n'est pas systématique. En effet, le plus souvent les antigènes sont directement phagocytés par les macrophages (cellules de Kupffer) et il n'y a pas de passage dans la circulation générale. Par ailleurs la production d'un facteur inhibiteur des lymphocytes dans le foie sain est fortement suspectée. (STROMBECK, 1979)

1.2.2 Inflammation et activation des cellules de Ito

Secondairement à l'apoptose des hépatocytes, une réaction inflammatoire intense prend place, qui est le stimulus majeur dans l'installation de la fibrose.

Des médiateurs de l'inflammation (cytokines, fibronectine, facteurs de croissance) sont libérés suite à l'activation des cellules de Kupffer et des plaquettes, et colonisent les espaces laissés libres par les hépatocytes nécrosés. Par ailleurs, les cellules de Kupffer et les polynucléaires neutrophiles activés produisent des radicaux libres responsables de nouveaux dégâts tissulaires. (FRIEDMAN, 2011) À partir d'une lésion initiale, différents mécanismes pathogéniques, notamment à médiation immune, s'associent dans l'entretien de l'inflammation (CENTER, 1996). Un cercle vicieux auto-entretenu par les anticorps et les réactions cytotoxiques provoque une inflammation continue, une nécrose et une fibrose du tissu hépatique.

Les cellules étoilées ou cellules de Ito - cellules péri-sinusoïdales situées en périphérie des espaces de Disse - sont les cellules effectrices principales du processus de fibrose. Au cours de la phase d'initiation de l'inflammation, les médiateurs inflammatoires ont

un effet mutagène sur ces cellules, modifiant l'expression de leurs gènes et de leur phénotype cellulaire les rendant sensibles aux cytokines et autres stimuli de l'inflammation.

Au cours de la phase de perpétuation de l'inflammation, le nouveau phénotype acquis par les cellules de Ito est maintenu. Ces cellules, dont la fonction primaire est de stocker la vitamine A, ont désormais des capacités de prolifération, de chimiotactisme, d'angiogenèse, de fibrogenèse, de synthèse de collagène et de facteurs de croissance, de contractilité, de dégradation de la matrice extracellulaire, et de libération de nouvelles cytokines activatrices de la réponse immunitaire. (LEE, 2011)

I.2.3 Fibrose hépatique

Dans le foie sain, il y a peu de fibroblastes et une production faible de tissu conjonctif (essentiellement en périphérie des lobules). La fibrose hépatique est caractérisée par une accumulation excessive des composants de la matrice extracellulaire (collagène, protéoglycanes, élastine, glycoprotéines) résultant d'un déséquilibre entre la synthèse et la dégradation de ses molécules constitutives. Le remplacement progressif du parenchyme hépatique par des composants de matrice cellulaire est à l'origine d'une perte de la capacité fonctionnelle hépatique.

La fibrose s'accompagne aussi d'une altération qualitative des composants de la matrice extracellulaire. Ainsi, physiologiquement, le collagène IV et VI s'organise en maillage lâche qui permet les échanges par diffusion dans les espaces de Disse. Lors de fibrose, il est remplacé par du collagène I et III, plus compact et de type fibrillaire. (FRIEDMAN, 2011) La perméabilité des espaces de Disse est donc altérée, ce qui réduit les échanges, notamment de dioxygène, avec le plasma. Le sang hépatique étant à 70% veineux, il est déjà pauvre en dioxygène, les hépatocytes sont donc très sensibles à une altération des échanges au niveau des espaces de Disse, ils meurent par apoptose suite à l'hypoxie ou à l'anoxie. Il y a donc de nouveau inflammation, puis fibrose : c'est un cercle vicieux.

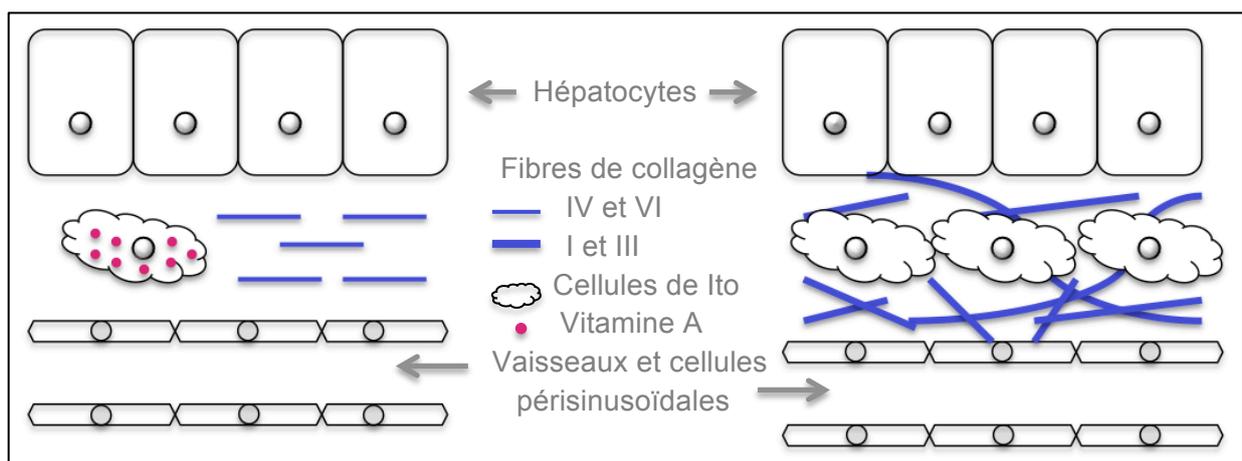


Figure 2 : Représentation schématique de la structure tissulaire hépatique en conditions physiologiques (à gauche) et lors de fibrose hépatique (à droite)

Les cellules de Ito transformées en myofibroblastes sécréteurs de collagène constituent l'effecteur principal de l'installation de la fibrose hépatique, et bien que les détails du mécanisme ne soient pas intégralement élucidés, de nombreux médiateurs impliqués dans le processus de fibrose ont été identifiés. (CULLEN, 2013)

I.2.4 Principaux médiateurs de la fibrogenèse hépatique

Tableau I : Liste non exhaustive de médiateurs de la fibrogenèse hépatique et de leurs rôles (CENTER, 1996 ; FAVIER, 2009 ; FRIEDMAN, 2011)

Facteur	Lieux de production	Rôles
Facteurs de croissance		
Facteur de croissance bêta TGF-β1	Cellules de Kupffer, lymphocytes, plaquettes	- Acquisition d'un nouveau phénotype par les cellules de Ito et prolifération - Inhibition des métalloprotéinases
Platelet-derived growth factor PDGF	Plaquettes activées	- Prolifération cellulaire et nouveau phénotype des cellules de Ito
c-Jun N-terminal kinase JNK	Plaquettes activées	- Sa phosphorylation et son activation, et induit une activation des voies du TGF-β1 et du PDGF
Connective tissue growth factor CTGF ou CCN2	- hépatocytes	- Activité dépendante du TGF-β1
	- cellules de Ito (hyperglycémie, hyperinsulinémie...)	- Activité indépendante du TGF-β1
Facteur de croissance alpha TGF-α , Facteur de croissance épidermique EGF	Cellules de Ito Transcription augmentée via les Cellules de Kupffer	- Prolifération des cellules de Ito
Facteur de croissance de l'endothélium vasculaire VEGF	Endothélium vasculaire	- Angiogenèse - Acquisition d'un nouveau phénotype par les cellules de Ito
Chémokines		
CCL2, CCL3, CCL5, CXCL1, CXCL8, CXCL9, CXCL10	Cellules de Ito	- Migration et prolifération des cellules de Ito
Adipokines		
Leptine	Adipocytes	- Augmentation de la libération de TGF-β1 par les cellules de Kupffer - Augmentation de la synthèse de TIMP-1
Autres adipokines	Adipocytes, macrophages, stroma vasculaire	- Médiateurs de la fibrogenèse
Facteurs neuro-endocrines		
Opioides		- Prolifération des cellules de Ito et sécrétion de collagène
Neuromédiateurs de la voie cannabioïde		- Pro-fibrotiques via le récepteur cannabioïde CB1
Sérotonine		- Pro-fibrotique, synergique avec le facteur PDGF
Hormones thyroïdiennes		- Activation des cellules de Ito - Stimulation de la fibrogenèse par l'augmentation de l'expression du récepteur à la neurotrophine p75NT et l'activation du facteur rho

Facteur	Lieux de production	Rôles
Facteurs immuns		
Cellules dendritiques Macrophages	Recrutés par les chémokines inflammatoires	- Amplification des lésions et stimulation du phénomène de fibrose
Ligand pour le récepteur TLR4	Secrété lors de la réponse immune	- Activation des cellules de Ito, du TGF- β 1, et des macrophages
Activation des cellules de Kupffer : augmentation de l'activité NF- κ B	Recrutés par les chémokines inflammatoires	- Secrétion de cytokines pro- inflammatoires : TNF- α , MCP1 aboutissant à l'activation des cellules de Ito qui recrutent des macrophages
Facteurs angiogéniques		
Hypoxia-inductible factor 1- α HIF-1 α , VEGF, PGDF	Secrétés suite à l'état d'hypoxie	- Angiogenèse - Fibrogenèse
Radicaux libres / stress oxydant		
Stress oxydant	- NADPH oxydase (NOX) - Oxydants	- Activation des cellules de Ito et des macrophages par le stress oxydant et la NADPH oxydase
Radicaux libres issus de la peroxydation lipidique	Hépatocytes, cholangiocytes, cellules de Ito, cellules inflammatoires	- Activation des cellules de Ito et des macrophages - Activation de la NADPH oxydase
Apoptose des cellules du parenchyme hépatique		- Stimulation de la NADPH oxydase - Activation du toll like receptor 9 : activation des cellules de Ito
Régulation génétique		
Facteurs de transcription Ets-1, Mef2, CREB, Egr1, Vitamin D receptor, Foxf1, JunD, C/EBP β	Au sein des cellules de Ito	- Activation de la transcription du collagène de type I, de α -SMA, du TGF- β 1 et de ses récepteurs, de MMP-2 et TIMP 1 et 2
Micro-ARN Exemple : lors de fibrose miR-29 est inhibé par TGF β et NF- κ B	Au sein des cellules de Ito, médié par divers facteurs	- Régulation de la transcription génique. Exemple : l'inhibition de miR- 29 est corrélée à une augmentation de la transcription de collagène

I.2.4 Cirrhose hépatique

Le terme de cirrhose hépatique est employé pour désigner une modification de l'organisation du parenchyme hépatique et de l'architecture vasculaire.

Au cours du processus de fibrose septale, des ponts se mettent en place avec les espaces porte ou les régions centrolobulaires adjacentes, ce qui aboutit à l'isolement des lobules hépatiques et conduit à terme à une cirrhose nodulaire.

Histologiquement, on distingue la cirrhose micronodulaire, plus fréquente dans les hépatites par surcharge en cuivre, de la cirrhose macronodulaire, observée plutôt dans les

hépatites chroniques idiopathiques. La fibrose périsinusoïdale, moins visible, forme une néo-membrane basale organisée en septa qui isolent les hépatocytes des capillaires sinusoïdes. Des anastomoses porto-systémiques intra- et extra-hépatiques se forment.

L'installation de la cirrhose perturbe les échanges métaboliques entre le secteur vasculaire et les hépatocytes, concourant au développement d'une insuffisance hépatique et d'une hypertension portale. (ANTHONY, 1977)

Autrefois largement employé pour désigner un stade final irréversible des maladies hépatiques chroniques, la définition de la cirrhose est actuellement à réviser. Effectivement, avec les avancées thérapeutiques l'évolution des hépatites chroniques ne se fait plus systématiquement vers la cirrhose, tout comme des patients atteints de cirrhose peuvent présenter des améliorations aussi bien cliniques qu'histologiques (voir I.2.5).

De ce fait, l'*International liver pathology study group* a souhaité répondre à la nécessité de redéfinir la cirrhose comme une affection évoluant sur plus d'un stade, et conseille de préférer l'emploi de systèmes de scores (voir I.3.5), qui classifient la fibrose en différents stades tenant compte conjointement de l'étiologie, de la clinique, des lésions histologiques, des répercussions hémodynamiques, et de la réponse au traitement. Le consensus propose de remplacer le terme 'cirrhose' par le terme 'stade avancé de fibrose', qui permet d'inclure les améliorations, plaçant alors la maladie hépatique à un 'stade avancé avec manifestations d'une régression'. (HYTIROGLOU, 2012)

I.2.5 Résolution

Le foie est un organe qui présente une étonnante capacité de renouvellement. Ainsi, lors de la résection de 70% du parenchyme hépatique, on a une régénération totale en 2 semaines (STROMBECK, 1979). Une réparation des lésions associées aux maladies hépatiques chroniques est possible, et semble envisageable même lors d'un stade avancé (WANLESS, 2000). Des études s'intéressant aux effets de divers traitements sur des patients atteints d'hépatites chroniques révèlent des régressions significatives de l'inflammation et de la fibrose à l'examen histologique sur des biopsies répétées (CHANG, 2010 ; DIENSTAG, 2003 ; POYNARD, 2002).

Cependant, certaines modifications sont irréversibles, c'est le cas lors du dépôt de fibres d'élastine, de complexes de collagène III qui ne sont pas dégradables, ou lorsque les remodelages vasculaires sont tels qu'ils limitent la fonction hépatique même une fois que la fibrose a régressé. Ainsi, les conditions idéales pour la régénération sont une vascularisation adéquate et une architecture normale du lobule, une trame de fibroblastes, collagène et réticuline intacte. Toutefois, ces circonstances sont peu fréquemment réunies, et très souvent les contraintes rencontrées limitent la régénération et la récupération fonctionnelle.

<p>L'installation de la fibrose hépatique est médiée par de très nombreuses molécules, et engendre des modifications histologiques allant jusqu'à des remaniements architecturaux majeurs affectant la fonctionnalité des hépatocytes, et dont la réversibilité reste à définir.</p>

I.3 IDENTIFICATION ET CARACTERISATION DE LA FIBROSE HEPATIQUE PAR HISTOLOGIE SUR BIOPSIES

I.3.1 Indications de la réalisation de biopsies hépatiques

✓ Indications

La biopsie hépatique est la seule méthode permettant l'obtention d'un diagnostic de certitude quand à la présence de fibrose (RAWLINGS, 2004 ; FAVIER, 2009). La réalisation de cet examen est indiquée suite à la découverte de certaines anomalies lors d'examens d'imagerie ou d'analyses biochimiques. Toutefois, l'analyse histologique donne un diagnostic morphologique qui ne correspond qu'à la petite portion d'organe prélevée. Ainsi, les résultats de l'interprétation histologique doivent systématiquement être confrontés à la clinique et aux examens biochimiques et d'imagerie pour conclure au diagnostic final, mettre en place un traitement voire se formuler sur le pronostic. Une autre indication de la réalisation de biopsies hépatiques est l'évaluation histologique des effets du traitement.

✓ Contre- indications

L'augmentation des temps de coagulation, la mise en évidence d'une thrombopénie et un mauvais état général du patient sont les principales contre-indications à la réalisation de biopsies hépatiques : une fibrinogénémie inférieure à 0,5 g/L est une contre-indication absolue à la réalisation de biopsies hépatiques (ROTHUIZEN, 2009 a). Bien qu'une étude sur 434 cas (BIGGE, 2001) ait montré qu'il n'y avait pas de corrélation entre la valeur des temps de coagulation et l'apparition de saignements lors de la réalisation de biopsies, elles restent contre-indiquées chez les animaux présentant des temps de coagulation augmentés.

L'existence d'une péritonite est à exclure au préalable car elle est une contre-indication majeure à la réalisation de biopsies compte tenu du risque d'essaimage associé.

La présence d'ascite est quant à elle une contre-indication relative car l'épanchement gêne l'immobilisation des lobes, mais, lorsqu'il est vidangé, les biopsies sont réalisables.

✓ Complications

Tous les facteurs de coagulation - à l'exception du facteur VIII - étant produits par le foie, les hémorragies constituent la principale complication lors de la réalisation de biopsies. Malgré tout, les complications restent relativement rares (ROTHUIZEN, 2009 b). On peut citer parmi elles les complications associées à l'anesthésie, des hémorragies, des hématomes sous-capsulaires, intrahépatiques ou intradiaphragmatiques, un passage du liquide d'ascite dans le thorax, des lésions des organes adjacents, plus rarement des péritonites. Les fréquences de survenue des complications diffèrent par ailleurs selon la méthode de prélèvement employée et l'expérience relative de l'opérateur.

I.3.2 Monitoring de l'animal et anesthésie

Le prélèvement ne doit être réalisé que si l'on est dans le cadre des indications de la réalisation d'une biopsie, après un examen clinique complet ainsi qu'un bilan hématologique.

Tableau II : Valeurs usuelles du bilan hématologique chez le chien
(The Merck Veterinary manual, 2015a)

Test	Facteurs de coagulation testés	Valeurs usuelles chez le chien
Hématocrite	Anémie due à des saignements	> 37 %
HEMOSTASE PRIMAIRE		
Temps de saignement buccal	Plaquettes, facteur de Von Willebrand	< 2 minutes
Numération des plaquettes	Plaquettes	> 211 000 / mm ³
HEMOSTASE SECONDAIRE		
APTT (temps de céphaline activée / kaolin)	Voies endogène (facteurs VIII, IX, XI, XII) et commune (facteurs I, II, V, X)	Par rapport à un témoin sain
PT (temps de prothrombine / temps de Quick)	Voies exogène (facteurs III, VII, X) et commune (facteurs I, II, V, X)	Par rapport à un témoin sain
TT (temps de thrombine)	Dernière étape de la voie commune	
Taux de fibrinogène (= facteur I)	Dernière étape de la voie commune	> 150 g/L

Dans le cas où le bilan hématologique n'est pas satisfaisant, il est possible d'administrer pendant plusieurs jours de la vitamine K1 par voie sous-cutanée à la dose de 1 à 5 mg/kg/j, avant de réévaluer les paramètres de coagulation. S'ils ne sont toujours pas normalisés, ce qui est fréquent chez des animaux ne présentant pas de déficit en vitamine K au départ, le plasma d'un animal sain peut être perfusé 2h avant la réalisation de la biopsie (ROTHUIZEN, 2009 b). Il convient d'effectuer un cross-match préalable, puis d'administrer le plasma à un débit de 4 à 6 mL/min à raison de 10 mL/kg (CHIARAMONTE, 2004).

La réalisation préalable d'un examen échographique est conseillée avant de réaliser l'abord, afin d'évaluer la taille du foie, les modifications de son architecture, de sa structure et de sa vascularisation, de mesurer le flux portal, d'objectiver la présence éventuelle d'ascite.

✓ Protocole anesthésique

Il convient prioritairement d'éviter l'emploi d'anesthésiques métabolisés par le foie et de tenir compte des répercussions systémiques de l'insuffisance hépatique.

Pour la réalisation d'une sédation, on évitera d'utiliser la phénithiazine (acépromazine), la butyrophenone, et les agonistes alpha-2 adrénergiques, qui ont des effets hypotenseurs. Par ailleurs, il semblerait que l'acépromazine soit à l'origine d'une altération de l'agrégation plaquettaire (BARR, 1992). L'administration de xylazine ou de détomidine peut entraîner des dysrythmies et des hypoglycémies. Ainsi pour une sédation, l'anesthésique de choix, présentant le moins de répercussions cardio-vasculaires, est le Diazépam, lorsqu'il est administré par voie intraveineuse lente à des doses inférieures à 0,2 mg/kg. L'utilisation d'opioïdes est possible en cas d'insuffisance hépatique, toutefois la prudence est de mise lors de l'administration de morphine ou de meperidine, qui peuvent provoquer une libération d'histamine et donc une hypotension, et qui sont dépresseurs respiratoires par leurs effets μ agonistes. On leur préférera plutôt le Butorphanol, qui occasionne une dépression cardio-respiratoire moindre. Les barbituriques sont à proscrire.

L'induction de l'anesthésie peut être réalisée avec du propofol ou de l'étomidate, dont le métabolisme n'est pas exclusivement hépatique, dont l'élimination est rapide. L'étomidate ne diminue pas la perfusion hépatique. L'injection de propofol est suivie d'apnées, à surveiller, mais généralement rapidement résolues. Les anesthésiques dissociatifs (kétamine, tiletamine, benzodiazépines) peuvent être utilisés, mais avec précaution et uniquement pour l'induction : un relais gazeux est indispensable pour le maintien de l'anesthésie. L'emploi de l'halothane est déconseillé, son hépatotoxicité étant nettement supérieure à celle du sévoflurane et de l'isoflurane. (GREENE, 1996)

✓ Monitoring

L'anesthésiste doit se tenir prêt à ventiler le patient si nécessaire, surtout si l'animal est gras, ou s'il présente une hypoalbuminémie dont les conséquences (ascite, œdème pulmonaire) limitent l'oxygénation pulmonaire. Il convient de monitorer la pression artérielle : l'hypoalbuminémie étant à l'origine d'une diminution de la pression oncotique, elle occasionne une hypotension, à corriger par l'administration de fluides isotoniques voire de colloïdes. Un suivi de la glycémie peut s'avérer nécessaire au cours de l'anesthésie, car bien que l'homéostasie du glucose soit généralement conservée très tardivement au cours de l'évolution des maladies hépatiques chroniques, une hypoglycémie peut apparaître suite au stress et à l'anesthésie. Elle est corrigée par l'administration intraveineuse de dextrose 5%.

L'analgésie post-opératoire consiste généralement en l'injection intra-abdominale de bupivacaine et l'administration de tramadol pendant 48 à 72 heures. Une antibiothérapie sera réalisée uniquement si nécessaire.

Après la réalisation de la biopsie, une surveillance visuelle de la zone du prélèvement est nécessaire, afin de s'assurer que les saignements ne soient pas trop abondants. Le risque de saignement dépend principalement de l'expérience de l'opérateur (ROTHUIZEN, 2009 b). Dans la majorité des cas, si l'animal présente au départ un bilan hématologique correct, les saignements restent réduits et un hématome se forme (RAWLINGS, 2004). Lors du réveil, l'animal doit être couché sur le côté biopsié, la compression du lobe biopsié sous le poids des organes abdominaux contribuant à l'hémostase. Le monitoring est conservé pendant les heures suivant le réveil : généralement, les saignements interviennent pendant les 5 premières heures (VASANJEE, 2006). L'animal est maintenu au repos et placé sous surveillance vétérinaire pendant 12 à 24 heures. Un suivi de l'hématocrite et de la pression artérielle est conseillé. En cas de doute, on pourra effectuer un examen échographique voire une abdominocentèse. Un recours à la chirurgie n'est que très rarement nécessaire pour identifier et stopper les saignements.

Si l'hémorragie est importante, il convient de perfuser du plasma frais ou du sang total. Le volume à administrer peut être calculé à l'aide de la formule suivante : $V = 90 \times PV_{\text{receveur}} \times (Ht_{\text{souhaité}} - Ht_{\text{receveur}}) / Ht_{\text{donneur}}$. Pendant les 30 premières minutes, le débit ne doit pas dépasser 1mL/kg/h afin de détecter une éventuelle réaction transfusionnelle. Ensuite, le débit est choisi par l'opérateur, selon les indications (anémie sévère, état hypocoagulable), et l'état physiologique de l'animal (insuffisance cardiaque ou rénale, hypovolémie). L'administration du volume souhaité doit être faite en 4 à 6h car au-delà les contaminations bactériennes sont trop importantes. Le cathéter utilisé est de gros diamètre (au moins 0,9 mm) pour éviter l'hémolyse, il est réservé strictement à la transfusion des produits sanguins. Un cross-test n'est pas nécessaire lors de la première transfusion en revanche il l'est pour les suivantes.

I.3.3 Méthodes de prélèvement

✓ Zone de biopsie

La biopsie peut être trans-thoracique par abord intercostal, ou trans-abdominale par abord ventral au niveau de l'hypocondre. L'abord latéral droit est à privilégier : il se réalise en arrière de la 9^{ème} articulation costo-chondrale, derrière le récessus costo-diaphragmatique de la plèvre. Par cet abord, le hile dans lequel passent artères, veines et conduits biliaires n'est pas exposé aux traumatismes. (ROTHUIZEN, 2006 ; RAWLINGS, 2004)

✓ Qualités du prélèvement : taille, contenu de la zone biopsiée

La taille minimale d'un prélèvement doit être d'une longueur de 2 cm pour un diamètre de 1,2 mm, soit 17 Gauge (FERRELL, 2013). En effet, pour une analyse correcte, le prélèvement doit contenir au minimum 6 espaces portes (RAWLINGS, 2011). Idéalement, 11 espaces portes permettent une analyse plus fine (FERRELL, 2013). Le prélèvement ne doit pas être fragmenté, et son épaisseur ne doit pas excéder 5 mm car au-delà la fixation n'est pas satisfaisante (ROTHUIZEN, 2009 b).

Il convient de prélever des tissus dans au moins 2 lobes distincts, et d'effectuer au moins 2 prélèvements par zone (ROTHUIZEN, 2006 ; RAWLINGS, 2004). Il est préférable de réaliser plusieurs prélèvements de petite taille, qui seront plus représentatifs de la structure du foie qu'un seul prélèvement de grande taille (CULLEN, 2013). Dans le cas des hépatites cupriques, 20 à 40 mg de tissu sont nécessaires à la quantification du cuivre. Pour une culture bactériologique, il faudra aussi prévoir environ 20 mg de tissu (RAWLINGS, 2011).

✓ Outils et techniques de prélèvement

Différentes techniques de prélèvement peuvent être envisagées : on distingue les abords par guidage échographique ou écho-endoscopie, des abords chirurgicaux par laparoscopie ou laparotomie. Quel que soit l'abord effectué, il est recommandé de visualiser la structure de l'organe dans son intégralité afin de choisir des zones les moins vascularisées pour la biopsie, ainsi que de contrôler les saignements à la suite de la réalisation du prélèvement. Les abords chirurgicaux permettent l'obtention d'échantillons de grande taille, dont l'interprétation histologique est plus fiable : il a été montré que les résultats d'analyse histologique entre des biopsies à l'aiguille et des biopsies excisionnelles concordent dans seulement 48% des cas (COLE, 2002).

- Abord par laparoscopie:

Les biopsies par laparoscopie sont généralement réalisées sous anesthésie générale, avec une ventilation en pression positive. Toutefois, la réalisation de biopsies hépatiques étant une procédure relativement rapide, il est envisageable notamment lorsqu'il existe des contre-indications majeures à l'anesthésie générale, de n'effectuer qu'une légère sédation au propofol accompagnée d'une anesthésie locale avec de la bupivacaine (RAWLINGS, 2011). Il faut cependant rester prudent lors du choix d'une simple sédation car si l'animal s'agite, le risque de lacérations et donc d'hémorragies augmente.

L'endoscope est inséré puis l'abdomen est distendu à l'aide de l'injection de gaz (dioxyde de carbone). L'abord par laparoscopie est considéré comme le meilleur en routine (RAWLINGS, 2011). Il permet, en plus de l'obtention de fragments de tissus de taille choisie, de visualiser environ 80% de la surface hépatique. Il est possible d'utiliser un endoscope à rotation angulaire pour visualiser la portion la plus crâniale du foie en contact avec le diaphragme. Lors de l'exploration, l'organe manipulé avec une sonde de palpation spécifique, en raison de son caractère friable et des risques de saignements associés. En revanche, les prélèvements nécessitent l'emploi de pinces forceps de 5 mm (RAWLINGS, 2004). Après préhension du site de biopsie, la pince refermée est maintenue environ 30 secondes en place afin que l'hémostase se mette en place, puis elle est tirée délicatement. Les prélèvements obtenus à l'aide de pinces forceps sont de qualité supérieure à ceux obtenus aux biopsies à l'aiguille 18 Gauge, trop petits et fragiles. Chez les chiens de moins de 10 kg, des pinces pédiatriques ovales de 3 x 6 mm sont préférées pour limiter les dommages tissulaires et vasculaires. La quantité de tissu prélevée avec ces pinces est généralement suffisante pour obtenir un diagnostic fiable (RAWLINGS, 2011). Il est possible d'utiliser un scalpel à ultrasons, qui limite les saignements. Toutefois, les dommages occasionnés sur les tissus entourant la zone biopsiée sont comparables pour les deux méthodes : pinces forceps ou scalpel ultrasonore. En cas de saignements trop abondants, il convient en première intention d'effectuer une compression à l'aide de l'extrémité de la sonde de palpation. S'ils persistent, des compresses hémostatiques Gelfoam imbibées de solution saline peuvent être appliquées sur la zone de biopsie à l'aide des pinces forceps. Il est aussi possible d'introduire une électrode monopolaire afin de stopper les saignements par cautérisation (ROTHUIZEN, 2009 b). Généralement, ces mesures suffisent à contrôler les saignements excessifs.

Enfin, lors d'un abord par laparoscopie, la pression portale peut être mesurée par manométrie après cathétérisation d'une veine jéjunale (COLE, 2002).

- Abord par laparotomie:

La laparotomie est réalisée sous anesthésie générale. Cet abord invasif n'est pas envisagé en première intention, mais plutôt s'il existe d'autres indications à la réalisation d'une laparotomie (anomalie vasculaire, chirurgie nécessaire sur un autre organe abdominal), ou si elle se révèle nécessaire à l'issue de la laparoscopie. Lors d'un abord chirurgical, l'opérateur réalise d'abord une évaluation macroscopique du foie. Il s'intéresse à sa taille, sa couleur, son homogénéité, sa consistance (CULLEN, 2013).

Le prélèvement peut être réalisé à l'aide d'un pistolet à biopsie d'un diamètre de 5 à 6 millimètres. Il est suivi de l'application d'un gel hémostatique. On lui préfère la technique dite de la « guillotine », qui consiste à ligaturer une portion d'un lobe hépatique à sa périphérie, zone facilement accessible dans laquelle les structures vasculaires et biliaires sont de taille réduite (MAYHEW, 2012). Lors du serrage, les structures sont écrasées et les saignements sont limités. Il est aussi envisageable d'utiliser un scalpel à activation ultrasonore afin de prélever une portion de lobe hépatique. Le taux d'hémorragies est similaire que l'on réalise le prélèvement par ligature ou par incision au scalpel ultrasonore (VASANJEE, 2006). Les hémorragies suite à l'utilisation de ces deux méthodes restent plus limitées que lors de l'utilisation de pistolets à biopsie, d'aiguilles à biopsie, ou de pinces forceps de laparoscopie (MAYHEW, 2012). Les saignements sont généralement contrôlés par l'application de compresses hémostatiques Gelfoam ou de colle de fibrine sur le site concerné (ROTHUIZEN, 2009 b).

- Abord échoguidé :

Une simple sédation est envisageable si l'animal ne s'agite pas, ce qui constitue un des intérêts majeurs de cette méthode. Sinon, on réalise une anesthésie générale.

La sonde échographique est protégée par une poche à sonde ou un gant stérile, et le contact avec la peau est assuré par l'emploi de gel stérile et/ou d'alcool. L'utilisation d'un guide à biopsie, bague emboîtée autour de la sonde échographique qui solidarise l'aiguille à biopsie à la sonde, augmente la précision du prélèvement. Une fois la sonde en place, ce système matérialise la zone de prélèvement sur l'écran par des pointillés qui constituent une « cheminée », région dans laquelle l'aiguille va pénétrer. La distance entre la peau et la zone de biopsie est mesurée afin de choisir la longueur de l'aiguille à biopsie qui sera insérée dans le guide. L'opérateur réalise ensuite une petite incision cutanée au point d'impact de l'aiguille, fait pénétrer l'aiguille et son mandrin, et réalise le prélèvement. La sonde est maintenue sur le même plan de coupe pendant 1 à 2 minutes suite au prélèvement afin de contrôler l'évolution des saignements, qui se manifestent par l'apparition progressive d'une zone échogène.

L'aiguille manuelle à biopsie la plus utilisée est la « Tru-Cut ». Comparativement aux aiguilles « Menghini » et « Klatskin », elles permettent l'obtention des prélèvements les plus grands, les moins fragmentés, avec le meilleur taux de corrélation diagnostic et le moins de faux négatifs (GOLDNER, 1979). Il est aussi possible d'employer des « Biopsy-gun », qui sont des pistolets en acier trempé automatiques, précis, rapides, qui évitent les mouvements traumatiques du va et vient de l'aiguille. Cependant, ils sont peu utilisés en routine notamment en raison de leur coût plus élevé.

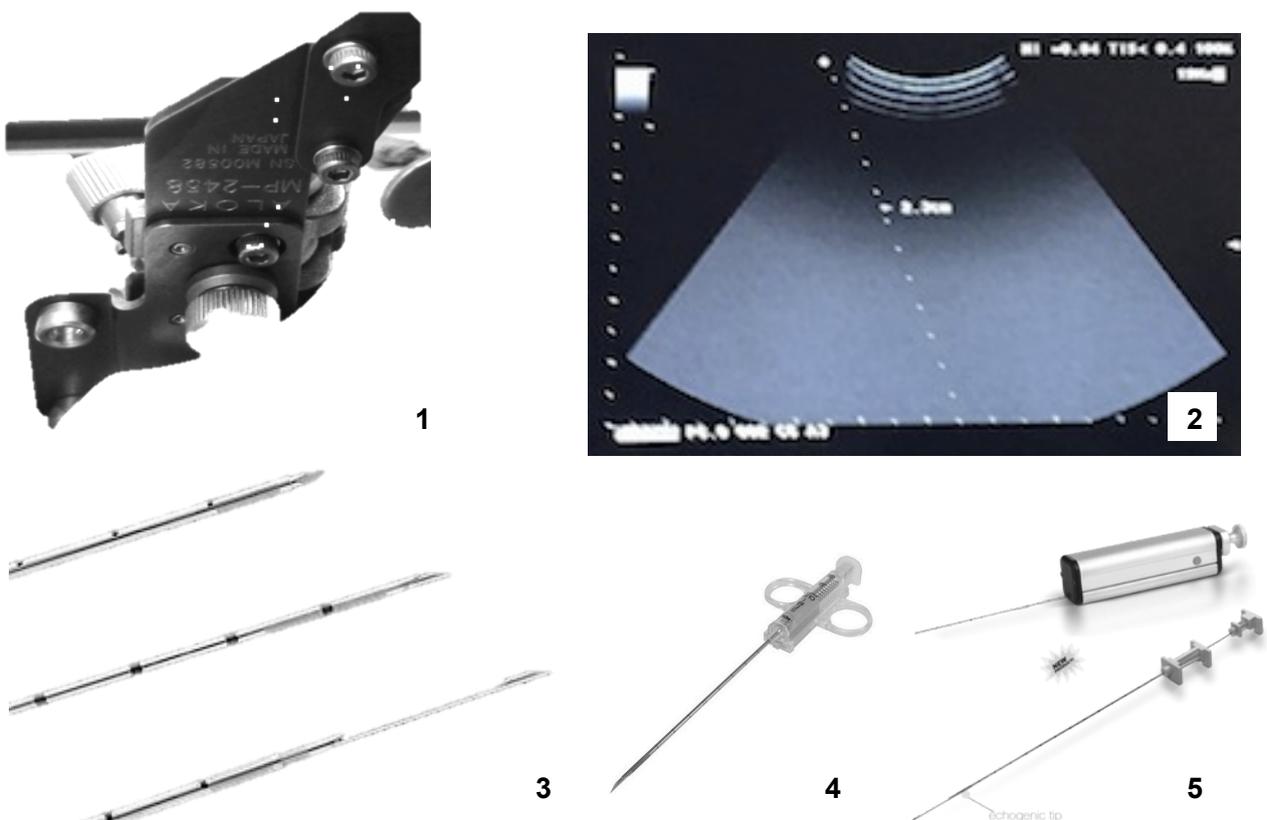


Figure 3 : Matériel de biopsie par abord échoguidé
Guide à biopsie (1), Ecran de l'échographe (2), Aiguilles (3) : Tru-cut (4), Biopsy-gun (5)

Tableau III : Caractéristiques des différentes voies d'abord pour la réalisation de biopsies hépatiques

Méthode de biopsie	Laparotomie	Laparoscopie	Echoguidée
Invasion	Invasive : plaie de grande taille, temps de récupération élevé	Mini-invasive : petite incision, récupération rapide	La moins invasive
Anesthésie	Anesthésie générale obligatoire	Anesthésie générale le plus souvent, possibilité de sédation + locale	Sédation + locale, voire anesthésie générale
Durée	Long	Rapide	Rapide
Saignements	Facilement identifiés et contrôlés	Facilement identifiés et contrôlés	Difficiles à identifier et à contrôler
Qualité du prélèvement	Fiabilité du site de biopsie choisi : organe visualisable dans son intégralité, prélèvement de grande taille	Fiabilité du site de biopsie : 80% de l'organe visualisable, prélèvement de taille convenable	Site de biopsie peu fiable : méthode peu sensible, prélèvements de petite taille, moindre fiabilité diagnostique

✓ Fixation du prélèvement

Les échantillons de foie destinés à l'analyse histologique doivent être placés dans un récipient en matière plastique rempli de formol dans les 5 minutes qui suivent le prélèvement avec un ratio de 1 volume de prélèvement pour 10 volumes de formol.

Pour doser le cuivre présent dans l'échantillon, il faut proscrire tout contact avec une solution saline car la présence de sodium fausse les mesures. Dans le cas où un examen immunohistochimique doit être réalisé, le prélèvement doit être traité dans les 48 heures, sinon la fixation trop longue fausse les résultats. Les échantillons destinés à une culture bactérienne sont quant à eux placés dans un milieu de transport aéro-anaérobie.

1.3.4 Examen histologique

✓ Colorations (cuivre fer vacuolation)

En routine, les prélèvements sont colorés à l'hématoxyline-éosine-safran. Toutefois, l'emploi d'autres colorants permet de préciser le diagnostic. Les techniques de détection par immunofluorescence sont envisageables, toutefois elles ne sont pas utilisées en routine.

Tableau IV : Colorations disponibles pour l'interprétation histologique de biopsies hépatiques

Colorant	Élément mis en évidence	Aspect
Hématoxylin	Acides nucléiques	Violet
Eosine	Protéines	Rose
Safran	Fibres de collagène	Orangé
Rhodanine/ acide rubéanique	Granules intracellulaires de cuivre	Marron-orangé
Rouge Sirius	Tissu conjonctif	Rouge sombre
Rouge Soudan	Lipides	Rouge
Acide périodique de Schiff	Glycogène et glycoprotéines	Rose
Trichrome de Masson	Fibres de collagène	Bleu
Réticuline stain	Fibres de réticuline	Noir

✓ Structure histologique du foie sain

Macroscopiquement, le foie est divisé en lobes, qui se subdivisent eux-mêmes en lobules. L'unité fonctionnelle du foie est le lobule, dont la forme hexagonale est difficilement identifiable chez le chien, défini par la présence d'espaces portes en périphérie et par la présence d'une veine hépatique en son centre. Chaque espace porte, d'un diamètre moyen de 1 mm, contient une ramification de la veine porte, une à trois ramifications de l'artère hépatique, un canal biliaire - reconnaissable par son système canalaire qui est un épithélium à cellules hautes - et un à plusieurs vaisseaux lymphatiques ponctués, drainés par les nœuds lymphatiques thoraciques.

Au sein du lobule, les hépatocytes sont organisés en travées d'une seule couche d'épaisseur. Les hépatocytes les plus jeunes sont produits en périphérie du lobule et leur migration est centripète. Leur cytoplasme s'enrichit en réticulum endoplasmique au fur et à mesure de leur maturation. Ils convergent en s'anastomosant vers le centre du lobule, lui conférant un aspect radié.

Les hépatocytes sont des cellules épithéliales dont le rapport nucléoplasmique est de 3 à 4. Ce sont les plus grandes cellules rencontrées dans le foie, elles représentent 60% en nombre, et 80% en volume, du total des cellules hépatiques. On rencontre environ 200 000 hépatocytes par milligramme de tissu hépatique. On ne note que très rarement la présence d'une activité mitotique. (CULLEN, 2013)

L'espace entre deux travées d'hépatocytes est occupé par des capillaires sinusoïdes, structures vasculaires résultant de la convergence entre les ramifications de l'artère hépatique et de la veine porte. Les capillaires sinusoïdes contiennent donc un mélange de sang artériel et de sang veineux. Ce mélange est peu oxygéné, l'apport de sang veineux représentant une proportion de 70%, ce qui fait du foie un organe très sensible à l'hypoxie. La circulation au sein d'un lobule étant centripète, les hépatocytes centrolobulaires sont les moins oxygénés, ils sont donc les premiers touchés par les phénomènes d'hypoxie.

Le trajet du sang issu des espaces portes n'étant en réalité pas unidirectionnel, une nouvelle unité fonctionnelle a été définie, bien que moins bien délimitable histologiquement : l'acinus hépatique, unité fonctionnelle centrée autour d'un espace porte, découpée en 3 zones. La zone 1 étant la plus proche de l'espace porte et recevant le sang le plus oxygéné, la zone 3 étant la plus éloignée et donc la plus sensible aux phénomènes d'ischémie.

Les cellules de Kupffer, qui sont les macrophages du foie, se trouvent sur la face luminale des capillaires sinusoïdes. Elles sont facilement identifiables à l'examen histologique de par leur abondant cytoplasme. Par ailleurs, est normal de trouver un nombre important de lymphocytes, puisqu'ils représentent 22% des cellules non hépatocytaires du foie. (THEISE, 2015)

Entre les hépatocytes et les capillaires, on trouve les espaces de Disse, lieux de réalisation des échanges, où logent les cellules étoilées aussi appelées cellules de Ito, normalement dédiées au stockage de la vitamine A, et productrices de tissu fibreux lors d'inflammation.

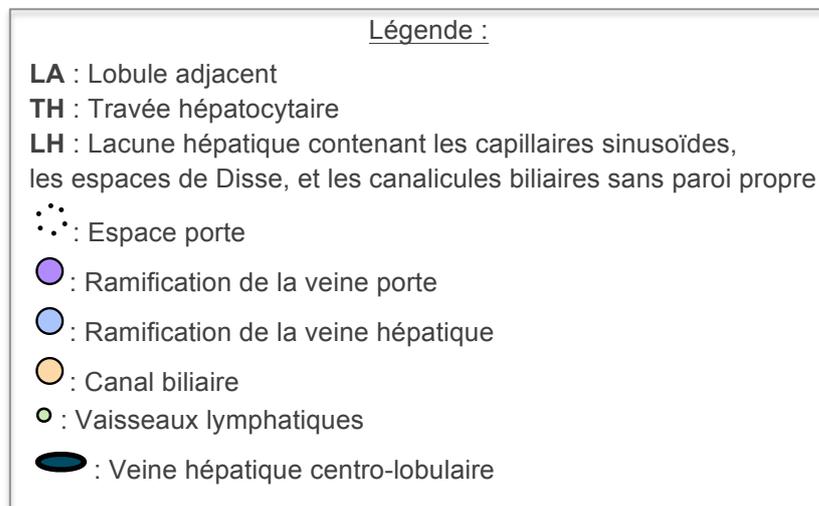
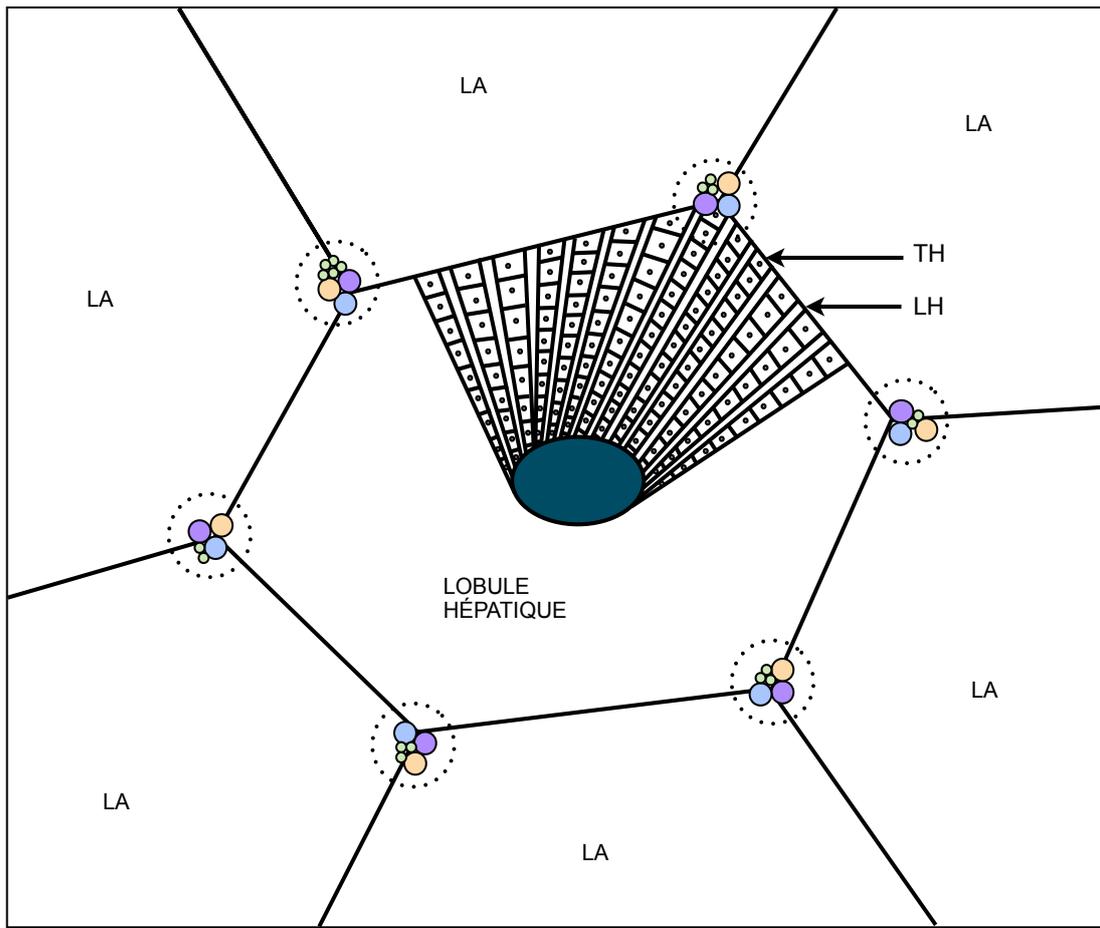


Figure 4 : Représentation schématique de l'aspect microscopique d'un lobule hépatique

✓ Lésions élémentaires

Les hépatocytes présentent des modifications morphologiques. Généralement, la taille des hépatocytes centrolobulaires est réduite lors d'hypoxie. Des figures d'apoptose ou de nécrose peuvent être observées. Les hépatites chroniques sont caractérisées par une infiltration de cellules inflammatoires.

- **Infiltrats inflammatoires**

L'inflammation est caractérisée par des infiltrats de cellules mononucléées : lymphocytes, plasmocytes, et macrophages. Des follicules lymphoïdes au centre germinatif clair peuvent être présents. D'autres cellules telles que des cellules plasmiques, des polynucléaires neutrophiles et éosinophiles, peuvent être retrouvées en proportions variables dans les infiltrats inflammatoires.

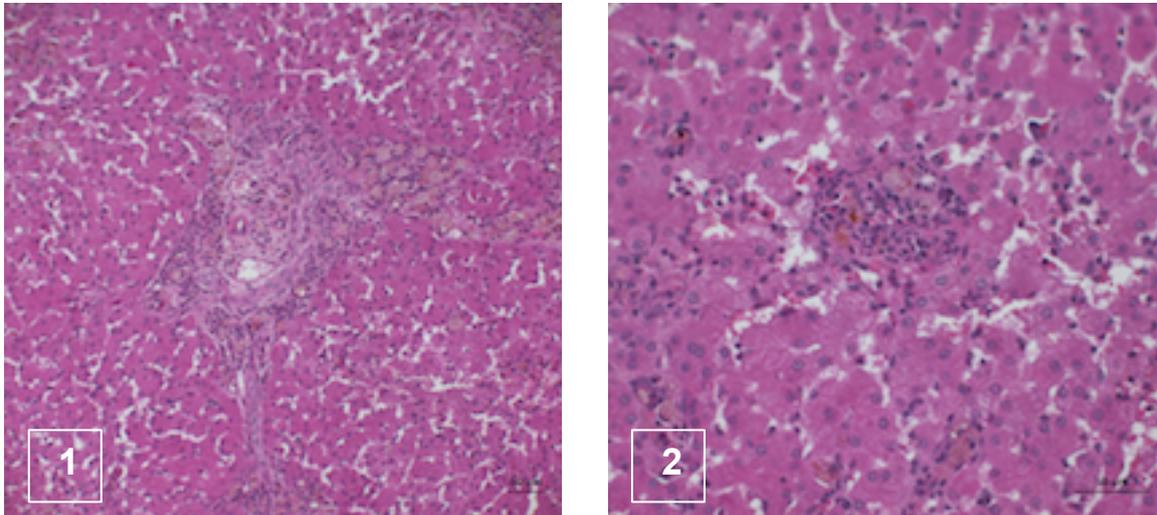


Figure 5 : Infiltrats inflammatoires au sein du parenchyme hépatique
Infiltrat portal lymphoplasmocytaire (1) Infiltrat neutrophilique (2)
(Service d'anatomie pathologique de VetagroSup)

- **Nécrose hépatocytaire**

Lors de nécrose, l'osmolarité de la cellule n'est plus régulée au niveau de la membrane plasmique, ce qui induit un gonflement de l'hépatocyte allant jusqu'à son éclatement. Des vésicules exportent des composants cytoplasmiques hors de la cellule, et des macrophages migrent en périphérie des hépatocytes en cours de nécrose. Au départ, la taille de l'hépatocyte augmente progressivement et le cytoplasme rétracté autour du noyau apparaît plus clair : cette lésion est nommée dégénérescence ballonnisante, elle est réversible. Le cytoplasme se condense de plus en plus (avec ou sans disparition du noyau jusqu'à donner un globule acidophile appelé corps de Councilman qui se détache de la travée hépatocytaire. Cette lésion est irréversible.

La nécrose peut être de répartition focale : on appelle nécrose confluente l'atteinte isolée d'un groupe de cellules au sein d'un lobule, et nécrose en pont l'atteinte systématisée d'un vaisseau à l'autre.

- **Nécrose d'interface**

La nécrose d'interface (ou Piecemeal Necrosis : PMN) désigne l'extension de l'infiltrat inflammatoire péri-portal dans le parenchyme, dissociant les lames bordantes et emprisonnant de petits amas d'hépatocytes. Ce schéma est la conjonction entre nécrose hépatocytaire et inflammation péri-portale.

- Apoptose hépatocytaire

Lors de mort cellulaire programmée, on observe des modifications morphologiques nucléaires. On peut décrire des figures de pycnose ou de caryorrhexie, qui sont respectivement une condensation de la chromatine et une fragmentation du noyau. Les cellules se fragmentent et donnent des corps apoptotiques acidophiles.

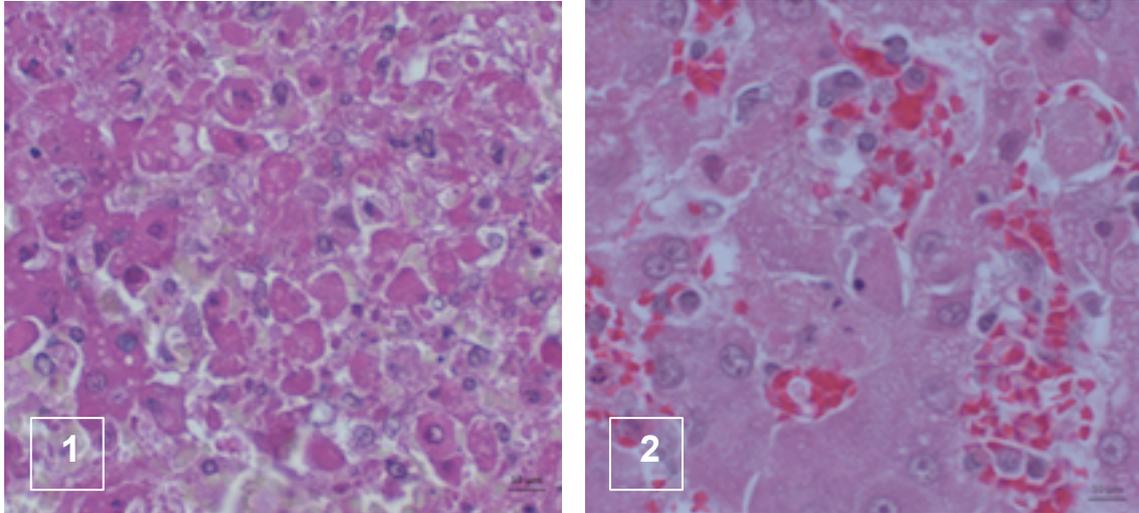


Figure 6 : Nécrose (1) et apoptose (2) hépatocytaires
(Service d'anatomie pathologique de VetAgro Sup)

Selon le stade de la pathologie, on observe des remaniements, tels des dédoublements des travées hépatocytaires caractéristiques d'un phénomène d'hyperplasie-régénération, des proliférations de canaux biliaires qui combrent les espaces ayant subi une très forte cytolysse ; une modification de l'architecture apparaît à un stade avancé.

- Accumulation de cuivre

Les hépatites cupriques résultent d'une accumulation progressive de cuivre dans les hépatocytes, à l'origine d'une inflammation et d'une nécrose des hépatocytes. Le schéma lésionnel est similaire pour toutes les hépatites chroniques, toutefois on retrouve à l'examen histologique l'évidence de la présence de cuivre localisé dans le cytoplasme des hépatocytes centrolobulaires en début d'évolution.

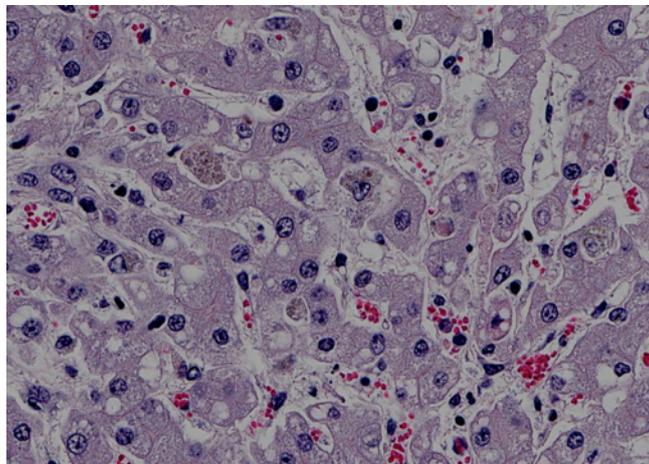


Figure 7 : Aspect histologique d'une hépatite cuprique
(Service d'anatomie pathologique de VetAgro Sup)

- Fibrose hépatique et cirrhose

La fibrose correspond au dépôt de fibres au sein du parenchyme hépatique, de répartition variable : portale, péri-portale, centro-lobulaire, extensive, en ponts (septa porto-portaux ou ponts centro-lobulaires). Les cas très avancés de fibrose accompagnés de remaniements architecturaux (nodules de régénération, anastomoses vasculaires porto-centrales) sont qualifiés de cirrhose.

✓ Modèles de répartition de la fibrose et interprétation

La circulation sanguine au sein d'un lobule s'effectue de la zone périportale vers la zone centrolobulaire. De ce fait, les fonctions des hépatocytes sont variables selon leur position dans l'acinus, ce qui implique la compartimentation de certaines activités métaboliques (épuration de l'ammoniac circulant par synthèse de l'urée et sécrétion des acides biliaires préférentiellement localisées en zone périportale), tandis que d'autres activités (synthèse de l'albumine, catabolisme des protéines) sont effectuées par l'ensemble des hépatocytes.

Le remplacement du parenchyme hépatique par des composants de matrice extracellulaire est à l'origine d'une perte de la capacité fonctionnelle hépatique. La nature des agents étiologiques influence la répartition des lésions, et les répercussions fonctionnelles et lésionnelles de la fibrose sont différentes selon sa localisation: si la fibrose est située à proximité des espaces de Disse, les échanges seront altérés et les répercussions fonctionnelles seront majeures ; si elle se trouve autour de la veine centro-lobulaire, cela induit une stase en amont.

- Fibrose péri-portale

Ce schéma lésionnel est le plus fréquemment rencontré lors d'hépatite idiopathique.

- Fibrose centro-lobulaire

La répartition des lésions de fibrose est au départ centro-lobulaire dans le cas des hépatites cupriques puis elle s'étend progressivement au reste du lobule.

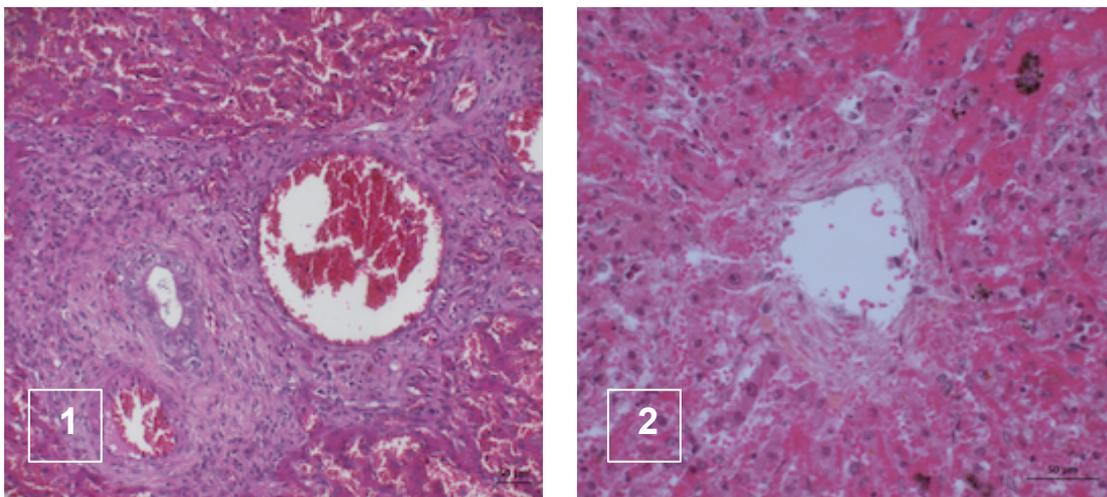


Figure 8 : Fibrose périportale (1) et fibrose centro-lobulaire (2),
(Laboratoire d'histopathologie de VetAgro Sup)

- Hépatite lobulaire disséquante

Le terme d'hépatite lobulaire disséquante est employé lorsque l'infiltrat inflammatoire est réparti dans l'ensemble du lobule, et les fibres de collagène et de réticuline entourent et isolent des hépatocytes seuls ou en groupe.

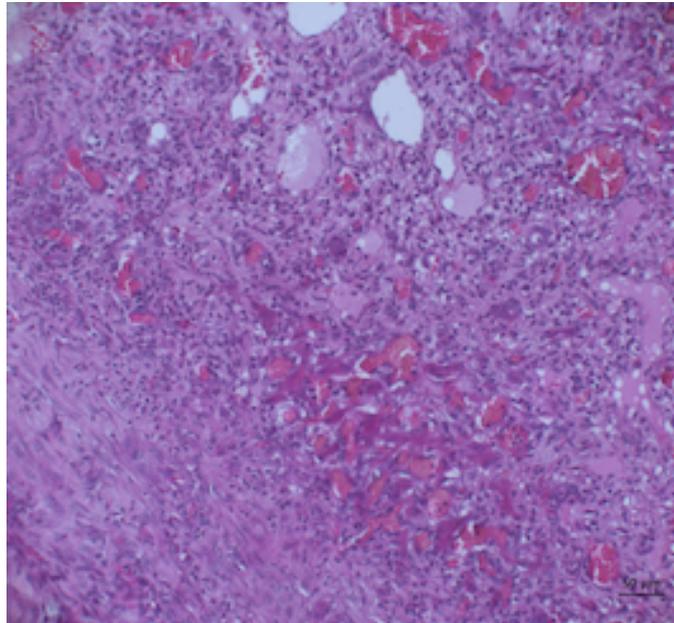


Figure 9 : Aspect histologique d'une hépatite lobulaire disséquante (Service d'anatomie pathologique de VetAgro Sup)

I.3.5 Scores histologiques semi-quantitatifs : description, avantages, limites

✓ Liste non exhaustive des scores disponibles :

- Score de Knodell et score de Knodell modifié

Le score de Knodell a été le premier système de classification systématique associant des valeurs numériques à trois catégories d'activité nécro-inflammatoire – quatre pour le score de Knodell modifié (inflammation et nécrose périportale, nécrose hépatocyttaire, inflammation lobulaire, inflammation portale) - et au degré de fibrose. Une fois additionnées, ces valeurs définissent un index d'activité de l'hépatite, échelonné de 0 à 22 (KNODELL, 1981).

Les inconvénients majeurs de ce score sont l'absence de distinction entre les paramètres activité nécro-inflammatoire (cause) et fibrose (conséquence), le passage d'une valeur de 1 à 3 ou de 6 à 10 sans intermédiaire (DESMET, 1994), l'addition des valeurs lors de la présence de plusieurs lésions concomitantes, qui augmente considérablement la valeur finale du score, ainsi qu'une mauvaise reproductibilité, ce qui a motivé des tentatives d'adaptation de ce score par la suite.

Tableau V : Classification de Knodell modifiée (KNODELL, 1981 ; DESMET, 1994)

Paramètre	Observation	Valeur
Nécrose périportale, Nécrose d'interface (PMN = Piece Meal Necrosis) Nécrose en pont = bridging	Nulle	0
	PMN discrète	1
	PMN modérée (<50% de la circonférence de la plupart des espaces portes)	3
	PMN marquée (<50% de la circonférence de la plupart des espaces portes)	4
	PMN modérée + ponts	5
	PMN marquée + ponts	6
	Nécrose multilobulaire (>2 lobes contigus)	10
Nécrose hépatocytaire et/ou dégénérescence hépatocytaire	Nulle	0
	Légère (lésions présentes dans moins d'1/3 des lobules)	1
	Modérée (lésions présentes dans 1/3 à 2/3 des lobules)	3
	Marquée (lésions dans plus de 2/3 des lobules)	4
Inflammation portale	Nulle	0
	Légère (plages inflammatoires <1/3 des espaces portes)	1
	Modérée (1/3 à 2/3 des espaces portes)	3
	Marquée (plus de 2/3 des espaces portes)	4
Inflammation intra - lobulaire	Nulle	0
	Légère	1
	Modérée	2
	Marquée	3
Fibrose	Nulle	0
	Expansion fibreuse des espaces portes	1
	Fibrose en pont (porto-portale ou porto-sus-hépatique, présente à au moins 2 endroits sur la biopsie observée)	3
	Cirrhose	4
TOTAL		0-22

- Score d'Ishak

Ce score constitue une modification de l'index d'activité de l'hépatite défini précédemment par l'équipe de Knodell. Il introduit les notions de grade et de stade, traditionnellement employés dans la description des affections néoplasiques, pour caractériser la sévérité et la progression des hépatites chroniques. Ainsi, les paramètres étudiés sont désormais représentés par deux indices : le grade, c'est-à-dire l'activité nécro-inflammatoire, et le stade, c'est-à-dire la fibrose.

La présence concomitante de plusieurs lésions est notée, mais les valeurs obtenues ne sont plus additionnées, on a une seule valeur de score possible. De nouvelles catégories sont ajoutées (cirrhose débutante, séparation entre les notions de ponts de nécrose et nécrose confluyente, distinction entre la sévérité et l'étendue des lésions). L'objectif de ce score est d'apporter une information la plus précise possible au clinicien, tout en étant reproductible (ISHAK, 1995). Cependant ce score très détaillé est considéré comme peu adapté à une utilisation clinique de routine.

Tableau VI : Classification d'Ishak, (ISHAK, 1995)

Paramètre	Observation	Valeur
Nécrose périportale (PMN = Piece Meal Necrosis)	Absente	0
	Légère (focale, atteinte de quelques espaces portes)	1
	Légère à modérée (focale, atteinte de la plupart des espaces portes)	2
	Modérée (<50% des canaux ou des septa)	3
	Sévère (>50% des canaux ou des septa)	4
Nécrose confluente	Absente	0
	Focale	1
	Quelques foyers de nécrose centrolobulaire (zone 3)	2
	Multiplés foyers de nécrose centrolobulaire (zone 3)	3
	Nécrose en zone 3 + quelques ponts porte-centrolobulaires	4
	Nécrose en zone 3 + nombreux ponts porte-centrolobulaires	5
	Nécrose para-lobulaire ou multi-lobulaire	6
Inflammation et nécrose lytique ou apoptotique focales	Absente	0
	0 à 1 foyer par champ de microscope au grossissement x10	1
	2 à 4 foyers par champ de microscope au grossissement x10	2
	5 à 10 foyers par champ au grossissement x10	3
	Plus de 10 foyers par champ au grossissement x10	4
Inflammation portale	Absente	0
	Légère, touchant quelques espaces portes	1
	Modérée, touchant les espaces portes en partie ou en totalité	2
	Modérée à marquée touchant la totalité des espaces portes	3
	Marquée touchant la totalité des espaces portes	4
TOTAL : activité nécroinflammatoire : détermination du grade	1-3 : Activité minime 4-8 : Activité faible 9-12 : Activité modérée 13-18 : Activité sévère	0-18
Fibrose : détermination du stade	Absence de fibrose	0
	Infiltration fibreuse de quelques espaces portes, associée ou non à la présence de septa de petite taille	1
	Infiltration fibreuse de la majorité des espaces portes, associée ou non à la présence de septa de petite taille	2
	Infiltration fibreuse de la majorité des espaces portes, associée à la présence de quelques ponts fibreux porte-porte	3
	Infiltration fibreuse de la majorité des espaces portes, associée à la présence de nombreux ponts fibreux porte-porte et porte-centrolobulaire	4
	Nombreux ponts fibreux, avec présence de quelques nodules caractérisant une cirrhose débutante	5
	Cirrhose probable ou installée	6
Le stade correspond à une seule catégorie : les valeurs ne sont pas additionnées.		

- Score METAVIR

Le score METAVIR, initialement créé pour classer les lésions histologiques de patients humains atteints d'hépatite C, est actuellement le score le plus communément utilisé en France. Tout comme le score d'Ishak, le score METAVIR s'appuie sur les notions de grade et de stade. Toutefois cette approche considère que les lésions périportales et intra-lobulaires sont le résultat du même mécanisme pathologique, et donc qu'il est inutile de les distinguer pour déterminer le grade, c'est-à-dire pour décrire l'activité nécro-inflammatoire. Il associe deux chiffres. Le premier, échelonné de 0 à 3, est repéré par la lettre A et représente l'activité nécro-inflammatoire (grade) de l'hépatite ; il va préjuger de la rapidité d'évolution de l'hépatite. Le second chiffre, repéré par la lettre F, caractérise les lésions fibreuses existantes à l'examen microscopique du foie (stade). Il est échelonné de 0 à 4. Le terme de septa employé dans la classification METAVIR correspond au terme de ponts de fibrose utilisé dans les classifications précédentes. Ce système, plus simple que les précédents, permet d'obtenir des résultats reproductibles et est facilement applicable en routine. Il est cependant assez comparable au score d'Ishak. D'après N.D. Theise (THEISE, 2007), l'inconvénient principal de ce score est de ne pas proposer de stade pour la fibrose nodulaire localisée, qui correspondrait à un intermédiaire entre F3 et F4.

Tableau VII : Classification METAVIR (BEDOSSA, 1996)

Paramètre	Observations histologiques	Score	Signification
Activité (grade)	Absence d'hépatite d'interface avec moins d'une lésion parenchymateuse par lobule	A0	Sans activité
	- Absence d'hépatite d'interface avec une lésion parenchymateuse par lobule OU - Inflammation focale, atteignant quelques espaces porte avec <1 lésion parenchymateuse par lobule	A1	Activité minimale
	- Absence d'hépatite d'interface (PMN) avec plusieurs lésions parenchymateuses par lobule OU - Inflammation focale, atteignant quelques espaces porte avec plusieurs lésions parenchymateuses par lobule OU - Inflammation focale atteignant tous les espaces portes ou inflammation diffuse de plusieurs espaces portes avec quelques parenchymateuses par lobule	A2	Activité modérée
	- Inflammation focale atteignant tous les espaces portes ou inflammation diffuse de plusieurs espaces portes avec quelques lésions parenchymateuses par lobule OU - Inflammation diffuse atteignant tous les espaces portes quelque soit le nombre de lésions parenchymateuses par lobule	A3	Activité sévère
Fibrose (stade)	Pas de fibrose : espaces porte normaux	F0	
	Fibrose portale (espaces porte élargis) sans septa	F1	
	Fibrose portale (espaces porte élargis), rares septa	F2	
	Fibrose portale, nombreux septa (stade pré-cirrhotique)	F3	
	Cirrhose : remaniements architecturaux	F4	

- Score de Scheuer

Le score de Scheuer (1991) est un système simple assez proche du score METAVIR, qui prend en compte uniquement deux catégories dans l'évaluation de l'activité de l'hépatite : la localisation portale ou la localisation périportale et lobulaire, la localisation de l'inflammation primant sur sa quantification. Le défaut majeur de ce score réside dans le fait que certaines notions dans la définition du stade ne sont pas assez précises, comme par exemple l'emploi du terme de 'fibrose avec distorsion architecturale sans évidence de cirrhose', qui rend difficile la catégorisation de la présence ou non de cirrhose (THEISE, 2007).

Tableau VIII : Classification de Scheuer (THEISE, 2007)

Paramètre	Observations histologiques	Score
Activité (grade)	Absence de lésions portale ou périportale et lobulaire	0
	Inflammation portale ou périportale et inflammation lobulaire sans nécrose	1
	Nécrose d'interface légère, nécrose lobulaire focale ou observation de corps acidophiles lobulaires	2
	Nécrose modérée, nécrose lobulaire focale sévère	3
	Nécrose sévère, ponts de nécrose lobulaire	4
Fibrose (stade)	Pas de fibrose : espaces portes normaux	0
	Espaces portes élargis avec présence de fibrose	1
	Septa périportaux ou porto-portaux, architecture intacte	2
	Fibrose avec remaniements architecturaux mais pas de cirrhose	3
	Cirrhose probable ou avérée	4

- Score de Batts-Ludwig

Le classement de Batts-Ludwig repose sur les mêmes principes que les scores Metavir et de Scheuer : il classe en 5 catégories le grade (échelonné de 0 à 4) et le stade (échelonné de 0 à 4). La différence principale est qu'il ne fournit pas une description des lésions mais des images histologiques de référence correspondant à chaque grade et à chaque stade, ce qui limite les erreurs d'interprétation et de communication entre les pathologistes, et avec le client.

La reproductibilité de ce classement est élevée, toutefois, l'absence de description des lésions correspondant à chaque grade ou stade est un facteur limitant dans la lecture, car souvent les échantillons biopsiés sont de taille réduite par rapport à ceux présentés dans les images de référence de Batts-Ludwig. Pour rendre l'interprétation plus fiable, surtout par les opérateurs manquant d'expérience, ce score nécessiterait l'adjonction d'une description textuelle des lésions. (THEISE, 2007).

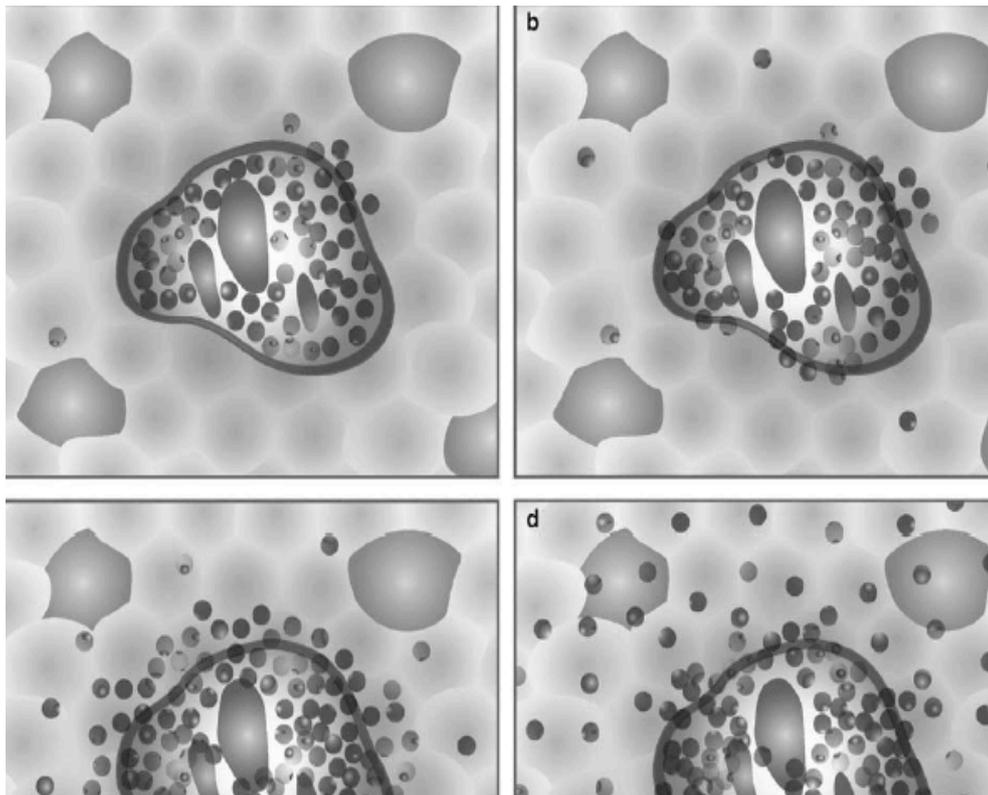


Figure 10 : Détermination de l'activité nécro-inflammatoire lors d'hépatite chronique (BATTIS, 1995). **a**: grade 1, **b**: grade 2, **c**: grade 3, **d**: grade 4 (nécrose confluyente: ponts).

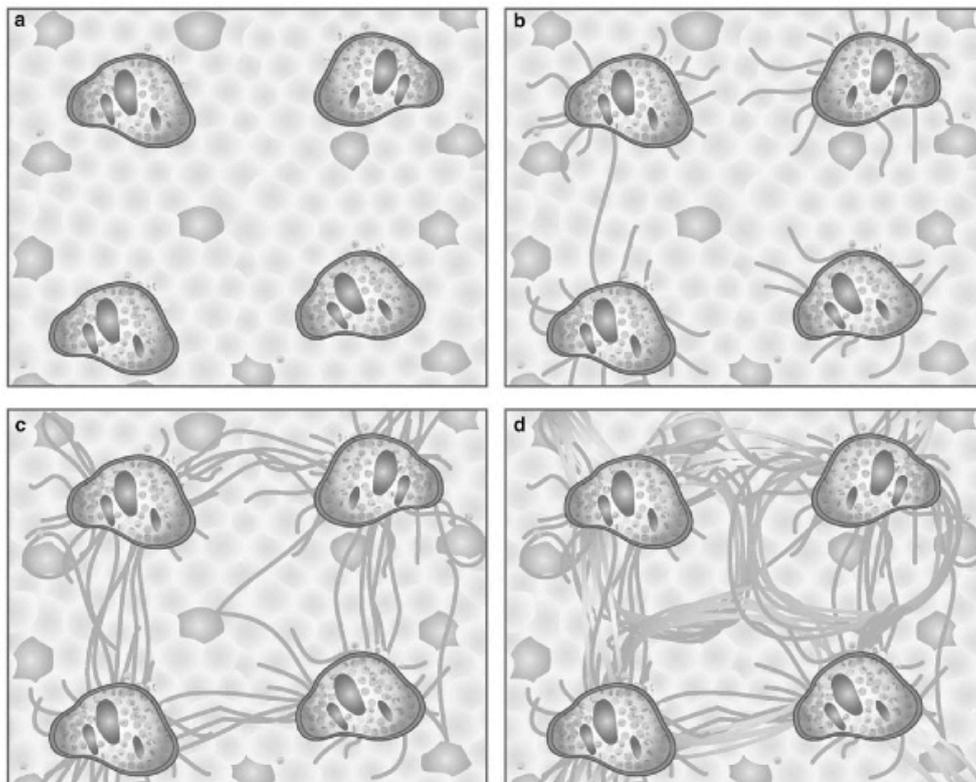


Figure 11 : Détermination des lésions fibreuses lors d'hépatite chronique (BATTIS, 1995). **a**: fibrose portale, **b**: fibrose septale en provenance des espaces porte, et reliant les espaces porte focalement, **c**: stade pré-cirrhotique avec quelques nodules de régénération entourés de fibrose, **d**: cirrhose installée.

- Score de Laennec

Ce score consiste en une stratification des cirrhoses (stade METAVIR F4) en 3 stades histologiques (4a, 4b, et 4c), corrélés à la sévérité de la clinique, à la mesure du gradient de pression portale, et au pronostic, le stade 4c étant le seul stade irréversible.

Tableau IX : Score de Laennec (RASTOGI, 2013)

Stade	Aspect histologique	Aspect de l'organe	Pression portale
4a	Stéatose centrolobulaire, fins septa fibreux	Hépatomégalie	< 10 mmHg
4b	Inflammation et fibrose, septa fibreux épais	Microhépatie	> 10 mmHg
4c	Nodules de régénération, septa fibreux très épais	Microhépatie franche, nodules de régénération	> 16 mmHg

✓ Récapitulatif et comparaison des scores histologiques semi-quantitatifs

Les scores histologiques semi-quantitatifs présentent l'avantage de classer de façon assez précise les lésions inflammatoires et fibrosantes hépatiques. Certains scores sont plus précis que les autres (score de Knodell, score d'Ishak), toutefois cela les rend moins reproductibles et moins facilement applicables en routine.

Les scores simplifiés (scores METAVIR, de Scheuer et de Batts-Ludwig) sont donc les plus utilisés bien qu'ils engendrent certaines imprécisions (le score METAVIR, par exemple, recense la fibrose portale mais ne tient pas compte de la fibrose centrolobulaire). (THEISE, 2007 ; MANNAN, 2014)

Une étude réalisée sur 25 patients s'est attachée à comparer les résultats obtenus par 3 pathologistes en utilisant différents scores histologiques (Knodell, Scheuer, Ishak, METAVIR). Aucune différence statistique significative des grades et des stades obtenus par ces scores n'a été mise en évidence (MANNAN, 2014). Il convient donc que le pathologiste choisisse le score qui lui convient le mieux car les précisions diagnostiques des scores se valent (THEISE, 2007).

Tableau X : Équivalence entre les scores histologiques de Scheuer, METAVIR, et Batts-Ludwig.

	Scheuer	METAVIR	Batts-Ludwig
GRADE : ACTIVITE NECRO-INFLAMMATOIRE			
Absence de lésion	Grade 0	A1	Grade 1
Inflammation focale	Grade 1	A1	Grade 2
Plusieurs foyers inflammatoires / nécrose discrète	Grade 2	A2	Grade 3
Nécrose modérée	Grade 3	A3	Grade 4
Nécrose sévère	Grade 4	A3	Grade 4
STADE : FIBROSE			
Absence de fibrose	0	F0	0
Fibrose portale sans septa	1	F1	1
Fibrose portale avec septa (plus ou moins nombreux)	2	F2	2
Fibrose portale avec nombreux septa / rares remaniements architecturaux	3	F3	3
Cirrhose / remaniements architecturaux	4	F4	4

I.3.6 Score histologique quantitatif : la morphométrie

La morphométrie est l'évaluation automatisée de l'aire de fibrose histologique par analyse d'images. Cette méthode consiste à colorer le collagène présent dans les fragments biopsiés, le plus souvent avec du rouge Sirius, et de mesurer la surface de collagène présente dans le fragment biopsié via un logiciel informatique. Contrairement aux scores semi-quantitatifs, cette méthode ne s'intéresse pas à l'étude des motifs lésionnels, mais permet en revanche de quantifier la fibrose de façon précise et reproductible, en s'affranchissant du biais lié à l'opérateur, d'où son intérêt en complément des méthodes semi-quantitatives. Des études se sont attachées à démontrer la fiabilité du diagnostic avec cette méthode, les coefficients de corrélation obtenus par comparaison aux scores de Ishak modifié (HUI, 2004) et au score METAVIR (CALÈS, 2015) étant excellents.

I.3.7 Intérêt et limites des scores histologiques

✓ Pronostic

Les scores histologiques permettent d'évaluer la gravité d'une hépatite de façon claire, fiable, et reproductible. Ainsi, l'existence de scores permet la comparaison de biopsies séquentielles réalisées chez un même patient, permet d'uniformiser les interprétations réalisées par des anatomopathologistes différents, rendant par exemple possible des comparaisons entre différentes études. Un des objectifs de la mise en place de ces systèmes de scores histologiques est de constituer une aide à la détermination d'un pronostic (ISHAK, 1995). De plus, la réalisation d'une biopsie permet d'intégrer la présence de fibrose à un contexte anatomo-pathologique, c'est à dire en interprétant les lésions tissulaires associées, ce qui semble plus intéressant que la méthode de morphométrie pour l'établissement d'un pronostic et d'une prise en charge.

✓ Limites d'interprétation

Il convient d'interpréter les résultats avec prudence car ces scores histologiques combinent de nombreux biais. La détermination du score nécessite la réalisation d'une biopsie hépatique adéquate (CF. I.3.3), ce qui expose à un biais d'échantillonnage important, car le prélèvement n'est pas toujours réalisé de façon idéale. Les scores obtenus par les différents observateurs ne sont pas toujours reproductibles bien qu'étant interprétés par des experts, plus particulièrement pour la caractérisation de l'activité nécro-inflammatoire, dont les résultats sont plus inconstants que pour la caractérisation de la fibrose (GOLDEN, 1996). Par ailleurs, le prélèvement ne représentant qu'une infime partie de l'organe, il n'est pas toujours représentatif de la sévérité de l'atteinte.

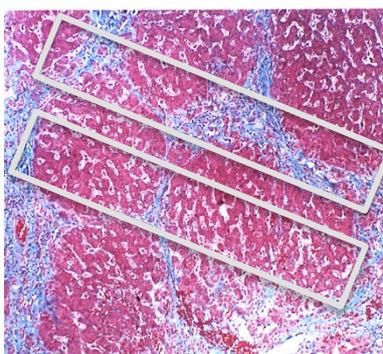


Figure 12 : Illustration de l'influence de la taille et de la localisation du prélèvement dans le cadre de l'interprétation de la biopsie.

Selon la coupe 1 le taux de fibrose est de 65% tandis que selon la coupe 2 le taux de fibrose n'est que de 15%.

Photographie : Pr. Massimo Pinzani.

Une définition plus juste du stade des hépatites chroniques nécessiterait de tenir compte de nombreux critères supplémentaires, dont des critères cliniques, en parallèle de la caractérisation histologique de l'activité et du stade de la fibrose. Ainsi, il conviendrait de tenir compte des résultats apportés par l'élastographie impulsionnelle, la mesure du gradient de pression portale, les scores cliniques (score de Child-Pughs, score MELD), et les biomarqueurs sériques. (FERRELL, 2013)

Garcia-Tsao propose ainsi une interprétation de la cirrhose (voir figure 15 ci-dessous) faisant intervenir la mesure du gradient de pression veineuse hépatique (HVPG) et des critères cliniques (ascite répondant au traitement médical ou ascite réfractaire au traitement, hémorragies (VH), encéphalopathie) apportant une précision supplémentaire en distinguant des sous-stades (GARCIA-TSAO, 2010).

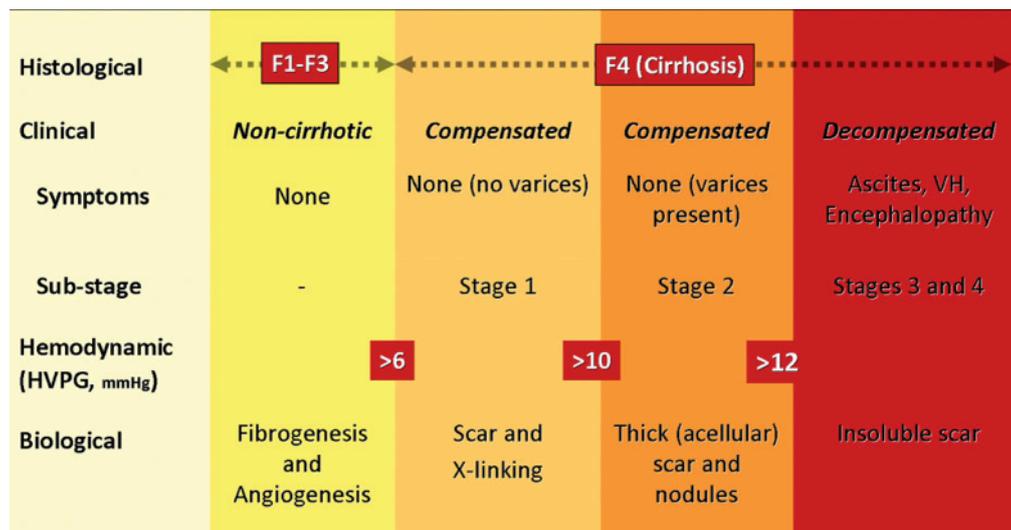


Figure 13 : Les différents stades de la cirrhose (GARCIA-TSAO, 2010)

✓ Limites d'indications

Un des inconvénients majeurs des scores histologiques est la nécessité du recours à un acte invasif pour caractériser la maladie hépatique chronique, avec un risque de complications à prendre en considération, ce qui rend le suivi difficile car il nécessiterait la réalisation de biopsies de façon répétée. Par ailleurs, les scores obtenus ne fournissent pas des valeurs continues comme le permettent par exemple les paramètres biochimiques, ce qui limite la précision du suivi.

Il apparaît donc intéressant d'utiliser les scores histologiques pour établir un diagnostic de départ qui caractérise avec précision les lésions histologiques. Concernant la suite de la prise en charge, les tests non invasifs de fibrose semblent plus adaptés au suivi. Il conviendra de les étalonner en fonction des résultats histologiques qui restent le gold standard.

II. Etude clinique des hépatites chroniques chez le chien

II.1 PRESENTATION CLINIQUE

II.1.1 Signes précoces non spécifiques

Les premiers signes observés ne sont pas pathognomoniques d'une atteinte hépatique. Parmi les chiens atteints d'hépatite chronique, 33,9% présentent de l'anorexie, 25,9% des vomissements, 23% de l'abattement, 40% un amaigrissement. Une faiblesse musculaire est aussi citée. Un diagnostic précoce suite à l'observation de signes cliniques si peu spécifiques chez le chien paraît peu réalisable.

Les manifestations cliniques précoces et leurs mécanismes d'apparition sont détaillés dans l'annexe 1.

II.1.1 Signes tardifs plus spécifiques

Les signes tardifs sont la conséquence des dysfonctionnements hépatiques. Certains d'entre eux sont plus spécifiques d'une atteinte hépatique, et l'observation de plusieurs de ces signes permet d'orienter le diagnostic. Ainsi, parmi les animaux présentant des hépatites chroniques, 6,4% présentent un ictère, 14,7% un syndrome fébrile, 5,3% de l'ascite, 26,4% des troubles urinaires et de la polyuro-polydipsie, 32,6% présentent des troubles de l'hémostase, 1,7% des troubles neurologiques, 25,9% des troubles digestifs et 22,4% des troubles dermatologiques. Ces prévalences ont été calculées par synthèse de plusieurs rapports de cas : FAVIER, 2009 ; WEBB, 2002 ; SOMMER, 2006 ; SHIH, 2007 ; MANDIGERS, 2006 ; GOMEZ SELGAS, 2014.

Les signes cliniques tardifs et leurs mécanismes pathogéniques sont présentés plus en détail dans l'annexe 1.

Compte tenu de la grande diversité des fonctions assurées par le foie, les maladies hépatiques sont caractérisées par une expression clinique protéiforme.

L'étude seule des signes cliniques ne suffit pas pour établir un diagnostic d'hépatopathie chronique. Ainsi, en début d'évolution, les animaux sont le plus souvent asymptomatiques, et les premiers signes cliniques ne sont pas spécifiques d'une atteinte hépatique. En fin d'évolution, les signes observés sont les répercussions de la perte de fonction hépatique : ils sont donc légèrement plus spécifiques, et l'association de plusieurs d'entre eux permet d'orienter le diagnostic vers une atteinte hépatique.

Le diagnostic d'hépatite chronique doit donc se faire en prenant compte d'autres informations que celles apportées par l'examen clinique.

II.2 DIAGNOSTIC

II.2.1 Biochimie

✓ Tests fonctionnels

Le foie joue un rôle essentiel dans le métabolisme des glucides, des protéines et des lipides. Il est possible de suivre ces paramètres par l'intermédiaire de dosages sanguins afin de mettre en évidence une atteinte de la fonction hépatique. Ces tests sont nombreux compte tenu de la diversité fonctionnelle du foie, toutefois ils restent peu sensibles car la perte de fonction hépatique apparaît tardivement.

Les tests fonctionnels et leurs valeurs usuelles chez le chien sont répertoriés dans la partie III.1.2 (Biomarqueurs de classe 2 : biomarqueurs indirects de la fibrose hépatique reflétant l'activité hépatique), dans le paragraphe III.1.2.3 intitulé *marqueurs de la fonction hépatique*.

✓ Evaluation des répercussions systémiques

- **Examen hématologique et temps de coagulation plasmatiques**

Le foie étant le lieu de production de la plupart des facteurs de coagulation, et de l'absorption de la vitamine K liposoluble (voies biliaires), l'évaluation des temps de coagulation plasmatiques s'avère indispensable à la prise en charge et au suivi des hépatites chroniques, même si aucun saignement n'est objectivé. Par ailleurs, une diminution de la clairance hépatique des pro-coagulants endogènes et de la synthèse des facteurs anticoagulants peut occasionner une coagulation intravasculaire disséminée.

- **Examen du liquide d'ascite**

Comme décrit précédemment (I.1.1), en fonction du mécanisme à l'origine de sa production, le transsudat sera soit pur (d'aspect eau de roche, de densité inférieure à 1,015, dont le taux protéique ne dépasse pas 15 g/L, et de faible cellularité) soit modifié (d'aspect légèrement trouble à séro-hémorragique, de densité inférieure à 1,030, dont le taux protéique est compris entre 15 et 30 g/L, et dont la cellularité est faible à moyenne). Un transsudat pur orientera préférentiellement le diagnostic une hypoalbuminémie seule, tandis qu'un transsudat modifié orientera vers une hypertension portale associée. Il convient cependant de rester prudent quant à l'interprétation et d'effectuer conjointement le dosage de l'albuminémie.

- **Examen urinaire**

La réalisation d'une bandelette urinaire objective une bilirubinurie. L'examen du culot urinaire permet de diagnostiquer une infection du tractus urinaire ou encore la présence de cristaux d'urate d'ammonium, dont la formation est favorisée par l'ammoniémie élevée concomitante au dysfonctionnement hépatique (WEBSTER, 2010).

✓ Tests spécifiques

Certaines enzymes sont des marqueurs plus précoces de la souffrance cellulaire : ce sont des enzymes normalement présentes dans les hépatocytes qui sont retrouvées dans la circulation sanguine à la suite de l'augmentation de la perméabilité membranaire et de la perte de l'intégrité des hépatocytes.

Les tests spécifiques et leurs valeurs usuelles chez le chien sont répertoriés dans la partie III.1.2 (Biomarqueurs de classe 2 : biomarqueurs indirects de la fibrose hépatique reflétant l'activité hépatique), dans les paragraphes III.1.2.1 et III.1.2.2 intitulés respectivement *marqueurs de cytolyse et marqueurs d'affections hépatobiliaires*.

L'altération de la fonction hépatique et ses répercussions systémiques sont tardives. En revanche, certains marqueurs sont plus spécifiques de la souffrance cellulaire et montrent un intérêt réel dans le dépistage et le diagnostic des hépatopathies chroniques.

II.2.2 Imagerie

✓ Radiographies abdominales

- **Indications :**

L'intérêt principal de l'examen radiographique va être d'objectiver une modification de la taille de l'organe.

- **Réalisation :**

L'animal doit être à jeun depuis 24h, voire avoir reçu un énéma 4h avant l'examen. Le cliché doit être pris en fin d'expiration, de façon à ce que l'abdomen occupe le plus grand volume possible. Il convient de réaliser une vue ventro-dorsale et 2 vues de profil. De préférence, les clichés sont réalisés sans tranquillisation, en raison de la sensibilité accrue aux molécules anesthésiques lors d'insuffisance hépatique. Une tranquillisation est envisageable (voir paragraphe I.3.2.).

- **Interprétation :**

À l'examen radiographique, le foie est le plus souvent d'aspect normal, c'est-à-dire d'opacité liquidienne homogène, légèrement moins échogène que la rate avoisinante, légèrement plus échogène à isoéchogène par rapport au cortex rénal. Les structures vasculaires sont généralement non distinguables du parenchyme, à l'exception de la veine cave caudale et de ses premières ramifications de gros diamètre, ainsi que des parois de la veine porte qui peuvent présenter un aspect hyperéchogène car elles sont entourées de tissu gras qui amplifie le contraste avec les structures fibreuses. Le canal biliaire n'est généralement pas visible à l'examen radiographique chez le chien. Il est rare de pouvoir distinguer chaque lobe hépatique.

L'étude des rapports anatomiques est importante car elle permet d'identifier une modification de la taille de l'organe. Le foie est délimité crânialement par le diaphragme ; caudalement par l'estomac et la rate à gauche et le rein droit, le pylore, et le duodénum proximal à droite. La partie caudale du foie est difficile à visualiser à l'examen radiographique du fait de la superposition de tous les organes adjacents. Des deux côtés, les extrémités du foie sont en contact direct avec les parois de l'abdomen en regard de l'arc costal, excepté dans les cas où l'animal présente de la graisse péritonéale en quantité abondante.

En cas d'hépatite chronique avancée ou de cirrhose, on peut apprécier une micro-hépatie, caractérisée par une silhouette hépatique réduite et un déplacement crânial du pylore et du corps de l'estomac, du duodénum, du rein droit, et du côlon transverse (JOSSIER, 2013). Le diagnostic différentiel de la micro-hépatie comprend les shunts porto-systémiques, les hernies diaphragmatiques, les hépatites chroniques au stade de fibrose avancée ou de cirrhose (LARSON, 2002). Une micro-hépatie peut aussi être faussement

diagnostiquée à l'examen radiographique chez les chiens avec un thorax profond tels que les Doberman Pinschers, les Greyhound, les Danois, ou les Dogues Allemands (BARTHEZ, 2006). On peut aussi détecter la présence d'ascite (épanchement abdominal) à l'image radiographique, caractérisée par une perte de contraste abdominal.

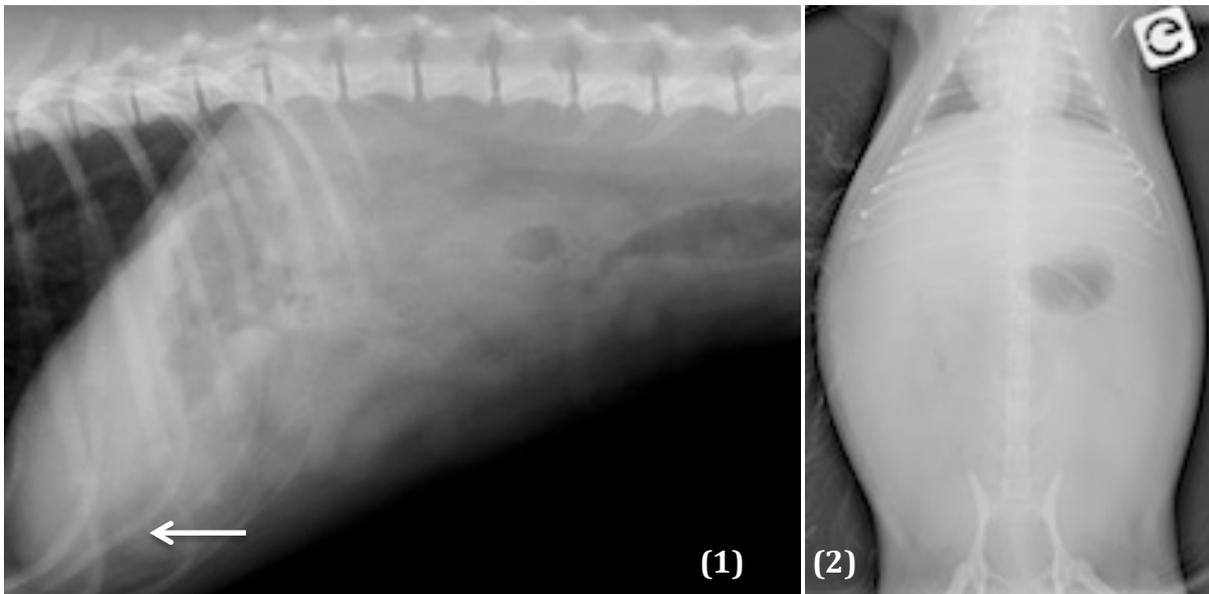


Figure 14 : Clichés radiographiques représentant une microhépatie (flèche) en vue latérale droite chez un chien Westie adulte (1) et un épanchement abdominal en vue ventro-dorsale chez une chienne de race Spitz de 4 ans (2). (Service d'imagerie de VetagroSup)

✓ Echographie abdominale

- **Indications :**

L'examen échographique du foie est indiqué lors de douleur abdominale, d'épanchement abdominal, d'état ictérique ou d'anémie.

- **Réalisation :**

Une diète de 12 à 24 h précédant l'examen est recommandée. Il convient de limiter au maximum l'apparition d'aérophagie car la présence de gaz dans l'estomac empêche la bonne visibilité du foie lors de l'examen échographique. L'animal est placé en décubitus dorsal, voire en décubitus latéral ou debout si ces positions permettent une meilleure visibilité du foie, par exemple lorsque l'estomac est rempli de gaz. L'abdomen est tondu du 10^{ème} espace intercostal à l'ombilic, et latéralement jusqu'à la moitié des parois de l'abdomen. De même que pour la radiographie, une tranquillisation n'est pas envisagée en première intention mais peut permettre d'augmenter le confort de l'examen en rendant l'abdomen plus souple et en ralentissant la fréquence respiratoire. La sonde d'échographie utilisée dépend de la taille de l'animal : on utilisera une sonde de 7.5 MHz chez les chiens de moins de 10 kg et une sonde de 5 MHz chez ceux de plus de 10 kg, voire une sonde de 3 MHz chez les animaux au thorax profond ou chez les races géantes.

L'exploration de l'intégralité de l'organe nécessite l'utilisation de différentes fenêtres acoustiques : la sonde échographique est placée sous l'hypocondre caudalement au processus xiphoïde ainsi qu'entre les 10, 11, et 12^{èmes} espaces intercostaux droits et gauches. Un examen échographique abdominal complet associé est vivement recommandé (NYLAND, 2002).

- **Interprétation :**

Lors des stades précoces, l'aspect du foie peut paraître normal à l'examen échographique. Lorsque la maladie hépatique avance, l'examen échographique peut orienter le diagnostic et permettre d'évaluer la présence et la répartition de lésions parenchymateuses, la vascularisation, les voies biliaires, et d'éventuelles répercussions de la maladie hépatique comme la présence d'un épanchement ou d'une hypertension portale.

La fibrose rend le parenchyme hyperéchogène de façon diffuse, et masque les contours des vaisseaux de la circulation porte. Plus rarement, on peut observer un parenchyme hétérogène avec des nodules d'hyperplasie qui apparaissent hypoéchogènes ou isoéchogènes. Lors de fibrose avancée ou de cirrhose, le foie est de taille réduite, hyperéchogène à hétérogène à cause de la fibrose, la présence de nodules de régénération rend les contours de l'organe irréguliers (JOSSIER, 2013). La veine porte peut être dilatée au niveau du hile, son diamètre peut devenir identique à celui de la veine cave caudale, son flux peut être modifié, ainsi que le trajet des vaisseaux. La pression portale peut être mesurée à l'aide de la fonction doppler, sa valeur est obtenue en faisant la moyenne de 3 mesures. On parle d'hypertension lorsque les valeurs obtenues sont supérieures à 5 mmHg (NYLAND, 1990). Si des shunts porto-systémiques se sont formés suite à une hypertension portale, ils peuvent être visualisés à l'examen échographique. Ils apparaissent sous la forme de vaisseaux anéchogènes multiples, tortueux, aberrants, dans le mésentère, en périphérie des reins ou dans le parenchyme hépatique. La vitesse du flux portal est généralement diminuée (<10cm par seconde). (FAVIER, 2009, BARTHEZ, 2006)

L'absence d'anomalies visibles à l'examen échographique ne permet pas d'exclure une hépatite chronique, l'échographie restant un examen peu sensible et peu spécifique contrairement à l'examen histologique qui est le gold standard pour l'établissement d'un diagnostic de certitude. Dans une étude réalisée par Poldervaart et al. (POLDERVAART, 2009), 67 cas d'hépatite chronique ont été confirmés à l'examen histologique, et 15 d'entre eux ne présentaient aucune anomalie hépatique visible à l'examen échographique. La sensibilité de cette méthode n'est donc pas optimale.

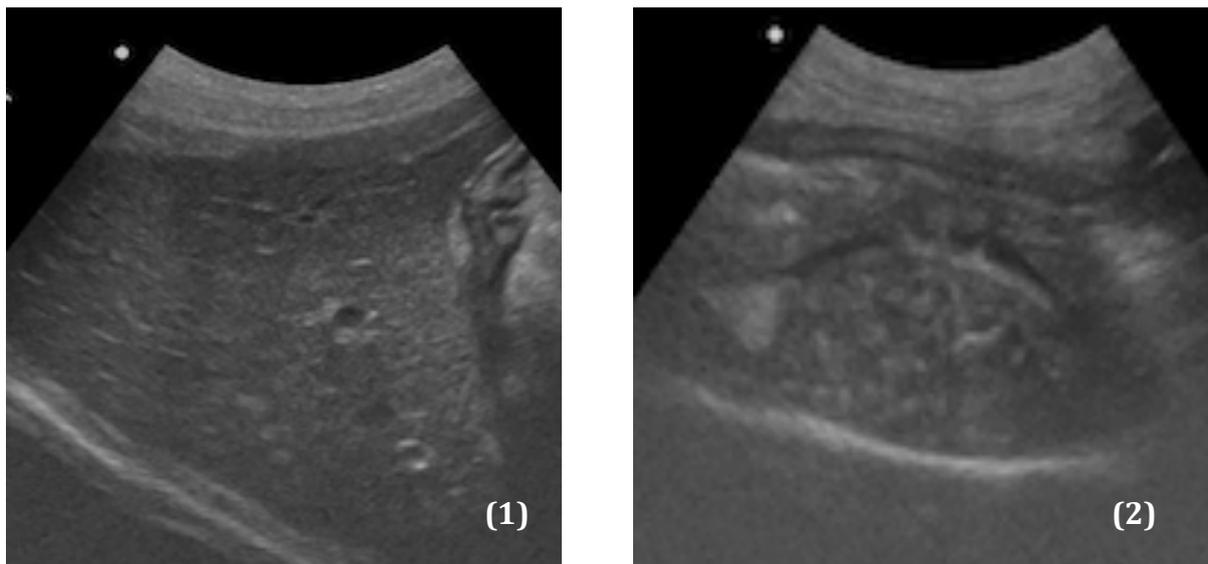


Figure 15 : Clichés échographiques du foie d'une chienne Jack Russell terrier avec un foie sain (1) et d'une chienne Jack Russel terrier de 7 ans atteinte de cirrhose hépatique (2)
(Service d'imagerie de VetagroSup)



Figure 16 : Cliché échographique d'un shunt hépatique porto-systémique acquis secondairement à une hypertension portale chez un chien de race Golden Retriever de 1 an (Service d'imagerie de VetagroSup)

✓ Elastographie impulsionnelle

L'élastographie impulsionnelle est une technique récente qui consiste en l'émission d'ondes à haute fréquence (5 MHz) et basse fréquence (50 Hz) par une sonde placée à la surface de la peau, puis à la mesure du déplacement des vibrations. Plus le tissu est fibrosé plus il est dense, donc plus la vitesse de propagation des ondes est élevée.

Cette méthode permet donc de cartographier la fibrose hépatique et de la quantifier de façon objective, en s'affranchissant du biais lié à l'opérateur. Une étude conduite sur 106 patients humains atteints d'hépatite C a montré que le Fibroscan permet d'obtenir des résultats reproductibles (avec un coefficient de variation de 3%), et bien corrélés au score METAVIR (avec un coefficient de corrélation de 0,71 ; une AUROC de 0,88 pour les scores supérieurs ou égaux à F2, et de 0,99 pour les stades cirrhotiques F4 (SANDRIN, 2003).

Une étude sur 13 chiens sains de race Beagle et Greyhound s'est attachée à évaluer l'applicabilité et la reproductibilité de cette méthode sur l'espèce canine. Les mesures étaient de meilleure qualité en décubitus latéral gauche, la sonde étant alors placée entre le sixième et le neuvième espace intercostal droit. La taille de la sonde utilisée s'est révélée ne pas avoir d'influence sur les résultats. Les mesures de cette étude n'étaient réalisées que par un seul observateur, ce qui ne permet pas de conclure sur le biais lié à l'opérateur. Toutefois, la reproductibilité des résultats était de 97,6%, ce qui est en faveur de l'applicabilité et de la reproductibilité de cette méthode (RIVERO-JUAREZ, 2012).

Toutefois l'élastographie impulsionnelle présente des limites : elle ne permet pas l'évaluation des modifications architecturales associées à la présence de fibrose. Or, il n'existe pas de relation proportionnelle entre l'aire de fibrose et le stade car la quantité de fibrose n'augmente qu'à partir du stade de fibrose septale (stade METAVIR F3).

Les appareils disponibles actuellement sont les suivants : FibroScan® (Echosens), Acuson S 2000 (Siemens), AixPlorer® (SuperSonicImagine), et Aplio XG® (Toshiba). Une étude menée par le centre hospitalier universitaire de Grenoble par l'équipe de Vincent Leroy, Pr, PhD. est en cours dans le but de comparer les performances diagnostiques de ces différentes méthodes comparativement à des biopsies hépatiques.

II.2.3 Histologie

Voir I.3.

L'imagerie permet de visualiser des indices de la présence d'une maladie hépatique, mais ne permet en aucun cas de donner un diagnostic, bien que les techniques d'élastographie impulsionnelle développées récemment soient de meilleure résolution que la radiographie et l'échographie. Actuellement, la réalisation de biopsies hépatiques destinées à une analyse histologique est la seule méthode permettant l'établissement d'un diagnostic de certitude.

Par ailleurs, les résultats de l'analyse histologique doivent être interprétés en tenant compte des résultats de l'ensemble des examens réalisés : examens biochimiques, hématologiques, élastographie, et surtout en tenant compte de la clinique.

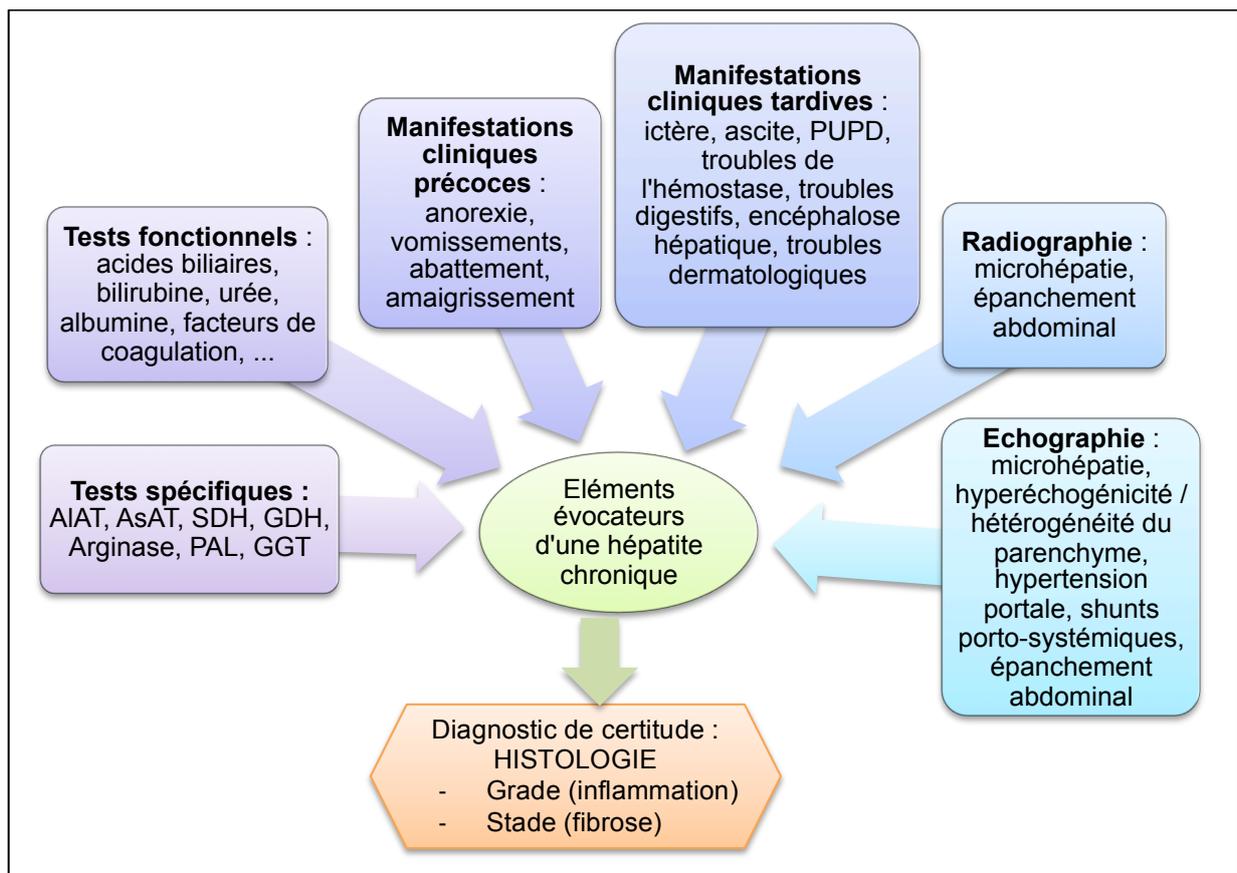


Figure 17 : Récapitulatif des outils du diagnostic des hépatites chroniques

II.3 ETIOLOGIE ET EPIDEMIOLOGIE DES HEPATITES CHRONIQUES CANINES

L'étiologie des hépatites chroniques est variée. Les hépatites primaires sont les plus fréquentes chez le chien. Le plus souvent, aucune cause n'est identifiée, on parle d'hépatites idiopathiques, qui représentent 64% des 101 cas d'hépatites primaires rencontrées à l'université d'Utrecht entre 2002 et 2006. La seconde manifestation la plus fréquente est une hépatite secondaire à une surcharge en cuivre (36% des 101 cas d'hépatites primaires rencontrées à l'université d'Utrecht entre 2002 et 2006). Des hépatites réactionnelles non spécifiques (consécutives à des intoxications médicamenteuses, ou à des infections par exemple) sont décrites, mais leur prévalence est beaucoup plus faible. Bien que la pathogénie des hépatites chroniques ne soit pas encore définie avec précision, les mécanismes immuns jouent un rôle important dans leur établissement. (FAVIER, 2009)

Les individus les plus fréquemment atteints sont les chiens de 8 ans en moyenne, et les femelles. Des prédispositions raciales sont décrites, associées ou non à des surcharges en cuivre. (BEXFIELD, 2012)

II.3.1 Hépatite Chronique Idiopathique

Les hépatites chroniques dont l'étiologie reste indéterminée après exclusion des causes actuellement connues, et qui ne sont pas associées à un schéma lésionnel histologique particulier sont regroupées sous le nom d'hépatites chroniques idiopathiques. Ces hépatites sont les plus fréquentes (64%). L'âge moyen des animaux atteints est de 7,5 ans et 8 mois, et certaines races sont plus fréquemment représentées que les autres : le Labrador retriever, le Golden retriever, le Cocker américain et le West Highland white terrier.

A l'examen histologique, les lésions sont principalement localisées dans les zones périportales. On observe la présence d'infiltrats inflammatoires lymphoplasmocytaires, de type CD3+ en majorité, ainsi que de processus de fibrose aboutissant à des remaniements architecturaux qualifiés de cirrhose macronodulaire. (POLDERVAART, 2009)

La réponse favorable de certaines hépatites chroniques idiopathiques à des thérapies immunosuppressives pourrait suggérer un mécanisme immunitaire. La présence dans le plasma des chiens atteints d'auto-anticorps dirigés contre les muscles lisses, les mitochondries, et les membranes hépatocytaires appuie cette hypothèse, d'autant que les lésions sont plus sévères chez les chiens présentant des titres élevés (ANDERSSON, 1992 ; WEISS, 1995). Toutefois, la présence de ces anticorps pourrait n'être qu'une conséquence de l'hépatopathie, car ils sont retrouvés aussi bien lors d'hépatopathies fibrosantes chroniques idiopathiques que lors d'hépatopathies d'origine néoplasique (DENOVO, 2010).

II.3.2 Hépatites chroniques raciales avec accumulation de cuivre

Des hépatites associées à des surcharges en cuivre sont fréquemment décrites. L'accumulation peut être primaire lors d'une absorption excessive, d'une anomalie métabolique, ou d'un défaut de sécrétion biliaire. Elle peut aussi être secondaire à une cholestase limitant l'excrétion de la bile et sera dans ce cas prioritairement retrouvée en position périportale, dans des quantités ne dépassant pas 2000 µg/g de matière sèche de tissu hépatique. (SPEE, 2006) Ces hépatites cupriques sont retrouvées plus fréquemment dans certaines races.

✓ Doberman pinscher

Les femelles Dobermans âgées de 4 à 7 ans semblent prédisposées au développement d'hépatites chroniques, caractérisées par un syndrome cholestatique évoluant vers la fibrose. Bien que la pathogénie ne soit pas connue, la forte incidence de cette maladie chez le Doberman comparativement aux autres races est en faveur d'une prédisposition héréditaire liée au sexe, les mâles étant moins représentés que les femelles. La prévalence de cette pathologie au sein de la race serait de 4%.

Une étude finnoise conduite sur 626 Doberman cliniquement normaux âgés de 1,5 à 9 ans a montré que 55 d'entre eux présentaient une augmentation des taux plasmatiques d'alanine aminotransférase. Des biopsies réalisées sur 23 de ces 55 chiens ont confirmé le diagnostic d'hépatite chronique, et l'étude a permis de montrer que les individus atteints peuvent rester asymptomatiques pendant près de 20 mois (SPEETI, 2004).

Certaines publications décrivent de possibles mécanismes immuns en raison de la nature et de la localisation des lésions histologiques, et de la concomitance de la présence en quantité élevée d'antigènes du complexe d'histocompatibilité de classe II (SPEETI, 2004 ; THORNBURG, 1998) ; tandis que d'autres études montrent l'existence d'une accumulation de cuivre qui pourrait être primaire, ou secondaire aux lésions (MANDIGERS, 2004).

Les manifestations histologiques sont variables, ce qui explique la variabilité des hypothèses pathogéniques. Certaines publications concluent en faveur d'un mécanisme immunitaire car l'examen histologique révèle une localisation centrolobulaire des lésions au départ, avec la présence d'infiltrats inflammatoires (lymphocytes, macrophages, cellules plasmatiques), de lésions de nécrose nodulaire ou en ponts, et de processus de fibrose, aboutissant à une cirrhose micronodulaire diffuse. (THORNBURG, 1998). Les lésions, d'abord centrolobulaires, progressent vers les zones périportales où elles deviennent plus sévères, et sont accompagnées d'une accumulation périportale de cuivre et de signes de cholestase (SPEETI, 2004). La surcharge cuprique n'étant pas systématique, et les lésions histologiques ne semblant pas corrélées aux taux de cuivre hépatique, l'hypothèse prioritaire est celle d'une cholestase secondaire.

Le pronostic est sombre, principalement lorsque les lésions histologiques sont avancées : la survie est de quelques semaines à quelques mois.

Par ailleurs, des complications de la coagulopathie sont à explorer dans le cas où le chien présente une maladie de Von Willebrand sous-jacente, pour laquelle les Doberman sont prédisposés. (DENOVO, 2010)

✓ Bedlington terrier

Le Bedlington terrier est porteur d'un gène autosomal récessif muté (COMMD1) qui le prédispose au développement d'hépatites cupriques. En effet, ce gène code pour la synthèse d'une métallothionéine responsable du stockage du cuivre dans les lysosomes hépatiques. Le cuivre accumulé induit des lésions oxydatives mitochondriales à l'origine de lésions hépatocytaires progressant vers de la fibrose.

L'étude de 117 biopsies hépatiques de chiens de race Bedlington terrier a montré le caractère progressif de cette hépatite raciale, les lésions histopathologiques étant plus sévères chez les chiens âgés et pour des concentrations en cuivre élevées, le pic de concentration étant à un âge moyen de 6 ans. En tout début d'évolution, l'analyse histologique des lésions montre une accumulation de cuivre dans les lysosomes, en région centrolobulaire. Ensuite, la répartition de cette surcharge s'étend aux zones périportales, et

des lésions de nécrose focale apparaissent. Les lésions s'étendent, et les derniers stades de l'évolution correspondent à une surcharge en cuivre dans l'ensemble du parenchyme hépatique associée à des lésions de nécrose et de fibrose sévères avec des remaniements architecturaux et vasculaires. (HULTGREN, 1986)

En début d'atteinte, les teneurs hépatiques en cuivre sont comprises entre 400 et 1500 µg/g de matière sèche de tissu hépatique (DWL), la moyenne pour l'espèce étant de 206 µg/g DWL. Elles deviennent fortement supérieures à 2000 µg/g DWL en fin d'évolution, pouvant atteindre des valeurs de 12 000 µg/g DWL.

Le portage de ce gène est un problème majeur au sein de la race Bedlington terrier : en 1995, il était présent chez 60% des individus de la race. En vue de son éradication, il est conseillé de tester chaque reproducteur par un test génétique permettant une détection précoce (à l'âge de 4-5 mois puis à l'âge de 14-15 mois), et d'écartier de la reproduction les individus porteurs. (ROLFE, 1995)

✓ West Highland white terrier

Une hépatopathie cuprique familiale est rapportée chez les chiens de race West Highland white terrier, bien que son mode de transmission ne soit pas encore connu. Ainsi, au sein de cette race, le croisement de deux individus présentant des hautes concentrations hépatiques en cuivre transmet l'anomalie à la descendance (THORNBURG, 1986), et l'étude des lignées confirme le caractère familial de ces accumulations de cuivre (THORNBURG, 1990). L'âge des individus atteints s'étend de moins de 6 mois à 13 ans, sans prédisposition de sexe, mais les individus jeunes sont plus représentés puisque la moyenne d'âge au moment du diagnostic est de 8 mois.

Ces hépatites chroniques évoluant vers la fibrose seraient causées par un défaut de sécrétion biliaire. Le West Highland white terrier présente des particularités comparativement aux autres races prédisposées aux hépatites cupriques. Premièrement, les taux de cuivre hépatique sont compris dans des intervalles très étendus, ce qui n'est pas le cas des autres races. Deuxièmement, l'accumulation de cuivre est inconstante au cours de la vie des West Highland white terrier : elle a lieu pendant la première année de vie, puis les taux de cuivre hépatique diminuent pendant le reste de la vie de l'animal. (THORNBURG, 1990)

L'examen histologique met en évidence une nécrose sévère centrolobulaire ou en ponts, des infiltrats inflammatoires, et de la cirrhose, mais l'étendue et la sévérité des lésions ne sont pas corrélées aux teneurs en cuivre. La relation entre l'accumulation de cuivre et les lésions histologiques n'est pas toujours très claire : des hépatites chroniques sont retrouvées dans cette race même pour des concentrations en cuivre inférieures à 2000 µg/g DWL (THORNBURG, 1986). Par ailleurs, deux schémas lésionnels distincts sont retrouvés à l'histologie. Le premier, similaire à celui rencontré dans les cas d'hépatites cupriques, est composé d'un infiltrat inflammatoire localisé autour de la veine centrolobulaire (macrophages, lymphocytes, polynucléaires neutrophiles), ainsi que de rares hépatocytes en cours d'apoptose en périphérie. Il n'est retrouvé que chez des animaux dont les concentrations hépatiques en cuivre sont supérieures à 2000 µg/g DWL. Le second schéma lésionnel est celui retrouvé dans le cas des hépatites idiopathiques. Il consiste en la présence d'hépatocytes en cours d'apoptose au niveau des espaces portes, entourés de lymphocytes.

Ainsi, il semble plus juste au sein de la race West Highland white terrier de distinguer deux types d'hépatites pouvant survenir : une hépatite cuprique familiale et une hépatite chronique idiopathique (THORNBURG, 1996).

✓ Skye terrier

Les chiens de race Skye terrier sont prédisposés à des hépatites chroniques fibrosantes associées à une accumulation de cuivre supposée héréditaire, mais dont le mode de transmission et le mécanisme d'accumulation ne sont pas connus actuellement (DENOV0, 2010). L'âge des individus atteints est très variable.

Les hautes teneurs en cuivre du foie (801-2257 $\mu\text{g/g}$ DWL) ne sont pas présentes en début d'évolution, où l'on rencontre une cholestase au sein des canalicules biliaires, associée à des lésions d'inflammation et de dégénérescence hépatocytaire. Plus l'affection est avancée, plus les taux hépatiques de cuivre sont élevés, contrairement à ce que l'on rencontre chez les chiens de race Bedlington terrier et West Highland white terriers, chez qui les taux ont tendance à être élevés au début puis à diminuer à mesure de l'évolution. Cela suppose pour les chiens de race Skye terrier une accumulation de cuivre secondaire à un trouble de la sécrétion de la bile et/ou dans le transport du cuivre. (HAYWOOD, 1988)

✓ Autres terriers

La prévalence des hépatites chroniques associées à une accumulation de cuivre est élevée chez les chiens de race terrier. On peut ainsi citer, en plus du Bedlington terrier, du Skye terrier et du West Highland white terrier, les races Scottish terrier, Jack Russell terrier, le Cairn terrier (POLDERVAART, 2009), Norwich terrier, Wire fox terrier, Airedale terrier, Bull terrier, et Kerry Blue terrier (ROLFE, 1995). Cependant, peu d'études s'attachent à l'étude précise des hépatites chroniques dans les races susmentionnées.

✓ Dalmatien

Les Dalmatiens développent des hépatites chroniques fibrosantes associées à des taux de cuivre hépatiques élevés (754-8390 $\mu\text{g/g}$ DWL) sans évidence histologique de cholestase, ce qui oriente les hypothèses pathogéniques vers une accumulation de cuivre d'origine métabolique et possiblement héréditaire.

Les résultats d'une étude menée sur 10 Dalmatiens atteints d'hépatite cuprique indiquent un âge moyen d'apparition des signes cliniques de 6 ans, sans prédisposition de sexe, et une évolution généralement rapide de la maladie. Les lésions histologiques observées sont une infiltration leucocytaire et neutrophilique, une nécrose d'interface, et des ponts de fibrose. Dans cette étude, la faible taille des biopsies ne permettait pas de décrire le motif de répartition de la fibrose au sein des lobules. (WEBB, 2002)

✓ Labrador retriever

Des hépatites chroniques se manifestant par de l'anorexie et des vomissements sont retrouvées à une fréquence élevée au sein de la race Labrador retriever. Les individus atteints le plus fréquemment sont des femelles adultes, âgées en moyenne de 7 ans.

L'examen histologique révèle une destruction des hépatocytes, une infiltration de macrophages, et une accumulation cytoplasmique de cuivre, le plus fréquemment localisées autour de la veine centrolobulaire, diffuses sinon. Ces éléments de l'examen histologique sont en faveur de l'hypothèse d'un dysfonctionnement primaire intéressant le métabolisme du cuivre. Par ailleurs, les taux de cuivre hépatique sont généralement supérieurs à 2000 $\mu\text{g/g}$ DWL, et sont bien supérieurs aux taux mesurés au sein d'un panel d'individus normaux de cette race, pour lesquels la moyenne obtenue est de 233 $\mu\text{g/g}$ DWL. (HOFFMAN, 2006 ; SMEDLEY, 2009)

II.3.2 Hépatites chroniques raciales sans accumulation de cuivre

✓ Cocker anglais et cocker américain

Les chiens de race Cocker sont fréquemment touchés par des hépatites chroniques qui évoluent rapidement vers la cirrhose. Les mâles jeunes adultes sont les individus les plus représentés, avec un âge moyen de 4,6 ans au moment du diagnostic. Les symptômes, non spécifiques, apparaissent tardivement malgré la sévérité des lésions.

Généralement, le diagnostic est obtenu lorsque les lésions sont déjà très avancées, et le pronostic est sombre : en l'absence de traitement, les animaux survivent quelques mois seulement après le diagnostic. (BEXFIELD, 2010) Toutefois, une étude japonaise de 12 cas laisse envisager une possible rémission au long cours avec un traitement anti-inflammatoire (prednisolone à la dose de 0,5 à 1,25 mg/kg/j) plus ou moins associé à de l'azathioprine à la dose de 1 mg/kg/j, et à un traitement symptomatique (acide ursodesoxycholique, lactulose, antibiothérapie, diurétiques, antioxydants, vitamine K1, alimentation spécifique). La médiane de survie décrite dans cette étude est de 2,5 ans avec traitement. (KANEMOTO, 2013)

La pathogénie est inconnue. Une accumulation hépatocytaire d' α 1-antitrypsine est décrite, bien que la teneur en cuivre hépatique soit le plus souvent dans les valeurs usuelles (BEXFIELD, 2010). Le signe clinique le plus fréquent au moment du diagnostic dans cette race est une ascite associée à une hypoalbuminémie sévère. L'analyse histologique révèle la présence d'une inflammation périportale, d'une vacuolisation, de fibrose sévère, et de cirrhose (hypertension portale, remaniements vasculaires, nodules de régénération), et un schéma d'hépatite lobulaire disséquante. Il est à noter que pour les cas étudiés au Japon, les lésions d'hépatite lobulaire disséquante sont les plus fréquentes, contrairement à ce qui avait été rapporté dans les précédentes publications européennes. (KANEMOTO, 2013)

✓ Caniche

Les chiens de race Caniche seraient plus susceptibles de développer des hépatites chroniques que certaines autres races. Ainsi, dans une étude rétrospective portant sur des cas d'hépatite chronique, 3 des 34 cas étudiés étaient des chiens de race Caniche. La présentation histologique est de type hépatite lobulaire disséquante. (FUENTEALBA, 1997)

✓ Springer spaniel

Une étude rétrospective s'est attachée à l'étude des hépatites chroniques au sein de la race Springer spaniel. Les femelles semblent prédisposées : sur les 68 chiens de l'étude, 48 sont des femelles. La moyenne d'âge au moment du diagnostic est de 3 ans et 7 mois.

L'étiologie demeure inconnue : aucun des agents étiologiques recherchés par PCR (adénovirus, parvovirus, herpèsvirus canins, *Leptospira* spp.) n'a été retrouvé, et bien que présence de cuivre en quantité modérée ait été objectivée dans plusieurs cas, elle était toujours en périportale. Cette accumulation serait donc plutôt secondaire à la présence de lésions hépatocytaires. L'examen histologique révèle la présence d'infiltrats inflammatoires prioritairement lymphocytaires, moins fréquemment neutrophiliques, périportaux ou diffus, associés à des lésions de nécrose et d'apoptose. Les biopsies de tous les chiens mettent en évidence de la fibrose, avec des lésions en ponts (50%) et de la cirrhose (25%).

La médiane de survie est de 6 mois avec traitement, et 56% des chiens n'ont pas survécu plus de 3 mois après l'établissement du diagnostic. (BEXFIELD, 2011)

Tableau XI : Récapitulatif des principales hépatites chroniques raciales

Race	Individus atteints	Pathogénie
Bedlington terrier	6 ans	Héréditaire : gène autosomal récessif COMMD1 -> accumulation de cuivre
Doberman pinscher	4-7 ans, femelles > mâles	- Supposé héréditaire (GEMI, 27-28 janvier 2011) - Mécanisme inconnu mais accumulation de cuivre
West Highland white terrier	8 mois	
Skye terrier	Variable	
Dalmatien	6 ans	
Labrador retriever	7 ans, femelles > mâles	
Cocker anglais et américain	4 ans et 7 mois	- Race prédisposée - Pathogénie inconnue mais pas de défaut primaire du métabolisme cuprique
Caniche	6-8 ans	
Springer spaniel	3 ans et 7 mois, femelles > mâles	

II.3.3 Hépatites chroniques lobulaires disséquant

L'hépatite lobulaire disséquante, d'étiologie inconnue, se manifeste par des signes cliniques d'apparition plus ou moins aiguë chez des animaux jeunes (moyenne d'âge de 2 ans et 4 mois). Les signes cliniques ne sont pas spécifiques, le plus souvent de l'ascite est rapportée au moment du diagnostic. Macroscopiquement, le foie est pâle et atrophié, sa surface est lisse, et des shunts porto-systémiques sont souvent associés. Cette forme d'hépatite se distingue des autres par sa présentation histologique qui consiste en un dépôt massif de tissu fibreux entourant un hépatocyte ou un petit groupe d'hépatocytes.

Le pronostic est plutôt sombre, la maladie étant généralement à un stade avancé au moment du diagnostic. La médiane de survie relative aux 7 cas rencontrés à l'université d'Utrecht entre 2002 et 2006, avec mise en place d'un traitement, est de $0,7 \pm 1$ mois (FAVIER, 2009).

II.3.4 Hépatites infectieuses

✓ Hépatites virales

Chez l'homme, l'étiologie principale des hépatites chroniques est virale. Chez le chien, elles sont le plus souvent idiopathiques, mais certaines études ont montré la présence dans des fragments biopsiés d'antigènes des virus de l'herpèsvirus canin et de l'adénovirus canin de type I (hépatite infectieuse canine de Rubarth).

Le diagnostic se fait par isolement du virus, PCR, immunohistochimie ou interprétation histopathologique. Des inclusions virales peuvent être observées dans les 10 premiers jours suivant l'infection. A l'examen histologique, l'infiltrat inflammatoire est de type neutrophilique dans un premier temps, puis aboutit à une hépatite chronique lymphoplasmocytaire associée à une fibrose portale (DENOVO, 2010).

Toutefois il convient d'interpréter les résultats avec prudence car il n'existe pas de preuves suffisantes de l'incidence de ces virus sur le développement d'hépatites chroniques.

Ainsi, une étude sur 53 chiens a suggéré l'existence d'un lien entre la présence du CAV-1 et la présence d'hépatites chroniques (RAKICH, 1986), mais dans une seconde étude incluant les biopsies de 45 individus atteints d'hépatite chronique, le virus n'a pas été mis en évidence, par immunohistochimie et PCR (CHOUINARD, 1998). L'herpèsvirus canin, le plus proche génétiquement du virus de l'hépatite C humain, n'a pas été retrouvé non plus au sein d'une cohorte de 100 chiens atteints d'hépatite chronique (BEXFIELD, 2014), ce qui appuie la faible prévalence des agents viraux dans l'étiologie des hépatites chroniques du chien.

✓ Hépatites bactériennes

Dans certains cas, des bactéries sont supposément responsables de lésions hépatocytaires primaires aboutissant à une hépatite chronique. On peut citer *Bartonella henselae* et *clarridgeae* (GILLEPSIE, 2003), *Ehrlichia canis*, *Leishmania infantum* (RALLIS, 2005), *Nocardia*, *Borrelia*, *Mycobacterium* spp. (O'TOOLE, 2005), *Leptospira*. Des bactéries provenant de la flore digestive ont aussi été identifiées – *Helicobacter* spp. (BOOKMENS, 2005), *Clostridium piliforme* (BOSCHERT, 1988), *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp., *Bacteroides* spp., *Streptococcus* spp. – supposant une contamination par voie ascendante.

Il est important de noter que ces cas restent isolés. Les affections hépatiques associées à la présence de leptospires sont en revanche plus fréquentes.

Peu d'études s'intéressent à la relation entre des cas d'hépatite chronique et la présence concomitante de leptospires. On peut citer une étude qui regroupe 5 cas découverts chez des chiens de race Beagle vivant dans une même meute (ADAMUS, 1997), Il semblerait que le plus souvent, les infections par les leptospires soient à l'origine de phénomènes de cholestase et d'hépatites aiguës, et que les hépatites chroniques soient plutôt associées à des infections persistantes. Aucune relation n'a été démontrée entre le sérovar intéressé et l'intensité ou la spécificité de la manifestation (GOLDSTEIN, 2006). Il est rare d'observer une atteinte hépatique isolée : généralement une atteinte rénale est associée.

✓ Hépatites parasitaires

Les parasites décrits en association à des hépatites chroniques sont *Echinococcus multilocularis*, *Dirofilaria immitis*, *Heterobilharzia americana*, et des larves sur leur trajet de migration (JOHNSON, 2013).

✓ Hépatites à protozoaires

Les protozoaires répertoriés dans la littérature en association à des hépatites chroniques sont *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, *Babesia canis* et *gibsoni*, *Hepatozoon canis*, et *Sarcocystis canis*. Le diagnostic est obtenu par PCR, sérologie, ou histopathologie. Les lésions histologiques associées à la présence de ces protozoaires sont nécrotiques ou granulomateuses. (JOHNSON, 2013)

✓ Hépatites fongiques

Des cas sporadiques d'hépatites chroniques associées à la mise en évidence d'agents fongiques au sein du parenchyme hépatique sont décrits dans la littérature. Les rapports de cas identifient entre autres *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis*,

Blastomyces dermatidis, Aspergillus fumigatus et terreus, à l'origine de lésions granulomateuses ou pyogranulomateuses. Le diagnostic se fait par examen sérologique ou histopathologique, ou par la mise en évidence de la présence d'antigènes dans les urines pour Blastomyces (JOHNSON, 2013).

✓ Hépatites algales

L'algue Prototheca zopfii est répertoriée dans plusieurs rapports de cas comme concomitante à la présence d'une hépatite chronique. Les lésions histologiques retrouvées sont granulomateuses. La mise en évidence de l'agent pathogène peut se faire par coloration à l'acide périodique de Schiff, avec de l'argent et de la méthénamine (JOHNSON, 2013).

La pathogénie des hépatites chroniques d'origine infectieuse serait une atteinte hépatocellulaire primitive par l'agent infectieux, à l'origine d'une hépatite réactionnelle avec un entretien des lésions par les phénomènes à médiation immune et inflammatoires. Il convient donc de prendre systématiquement en compte les causes infectieuses dans le diagnostic différentiel des hépatites chroniques. Ces affections étant non spécifiques, il est impossible de définir un pronostic en fonction de chaque étiologie. Bien qu'un traitement causal puisse être mis en place dans ces cas là, le traitement reste majoritairement symptomatique et antifibrosant, car les lésions hépatiques sont déjà avancées au moment du diagnostic de l'hépatite chronique (FAVIER, 2009).

II.3.5 Hépatite à cellules acidophiles

Une hépatite à cellules acidophiles d'évolution chronique et fibrotique a été décrite au Royaume-Uni en 1985. Elle était transmissible à d'autres chiens par l'injection sous-cutanée du sérum des animaux infectés. A l'examen histologique, les hépatocytes sont anguleux, leur noyau est condensé, et leur cytoplasme est acidophile. (JARRETT, 1985) Une origine virale, distincte du virus CAV-1 a été suspectée, mais peu d'études s'y sont intéressées par la suite, et l'agent responsable n'a jamais été identifié (JOHNSON, 2013).

II.3.6 Hépatites chroniques médicamenteuses

✓ Anticonvulsivants

Le Phénobarbital, la Primidone (précurseur du phénobarbital), et la Phénytoïne ont un effet inducteur enzymatique hépatique : leur administration est le plus souvent suivie d'une augmentation de l'activité des enzymes hépatiques, et peut dans certains cas occasionner une hépatite fibrosante, prioritairement lorsque les doses utilisées sont élevées et/ou lors de traitements au long cours. L'association de ces molécules entre elles augmente le risque d'hépatotoxicité. (DAYRELL-HART, 1991 ; SCHERK, 2010).

✓ Anti-inflammatoires stéroïdiens

L'administration prolongée de glucocorticoïdes a un effet inducteur hépatique. Ainsi, elle est fréquemment accompagnée d'une augmentation de l'activité des enzymes hépatiques. Il semblerait que la prednisolone soit à l'origine d'une accumulation cytoplasmique de glycogène responsable d'un phénomène inflammatoire évoluant sur un mode chronique (SCHERK, 2010).

✓ Anti-inflammatoires non stéroïdiens

L'administration d'une dose trop élevée de paracétamol occasionne un stress oxydatif caractérisé par des lésions de nécrose centrolobulaire, à l'origine d'hépatites aiguës pouvant évoluer vers la chronicité. Le paracétamol est habituellement métabolisé par glucuronogonjugaison et sulfonation au sein du parenchyme hépatique. En cas de surdosage, il est métabolisé par le cytochrome P450 en N-acetyl-p-benzoquinone-imine, métabolite hépatotoxique. La conjugaison de ce métabolite au glutathion le rend inactif et stimule son excrétion rénale. Chez le chien, les faibles taux hépatiques en glutathion peroxydase sont responsables d'une faible conjugaison des métabolites du paracétamol, et augmente ainsi leur sensibilité à cette molécule. La toxicité pour le paracétamol est donc dose-dépendante, et la dose toxique définie pour le chien est de 250 mg/kg. (SCHERK, 2010)

Le carprofène peut provoquer des lésions hépatocytaires, dont la sévérité n'est pas corrélée à la dose administrée ni à la durée du traitement, bien que dans la plupart des cas d'hépatotoxicité rapportés l'administration était supérieure à 2 semaines. Le plus souvent, l'atteinte est aiguë et se résout à l'arrêt de l'administration du carprofène, toutefois elle peut évoluer en hépatite chronique. Il semblerait qu'il puisse exister un autre mécanisme à l'origine de ces manifestations chroniques, car elles sont retrouvées en fréquence élevée chez la race Labrador retriever. (SCHERK, 2010)

✓ Antiparasitaires, antifongiques

Des recueils de cas ont montré que l'administration de certains antiparasitaires et antifongiques occasionnait des hépatites chroniques. Parmi ces molécules, on peut citer l'oxibendazole, le mébendazole, (SCHERK, 2010), le kétoconazole (GREENBLATT, 2014), l'itraconazole.

✓ Antibiotiques

La toxicité hépatique de certains antibiotiques est bien documentée en médecine humaine, peu décrite chez le chien pour le moment. On peut citer chez le chien les sulfamides et l'association sulfamide-triméthoprime, à l'origine de réactions d'hypersensibilité par formation d'haptènes avec les protéines tissulaires, ainsi que les tétracyclines, bien que ces dernières occasionnent plutôt des évolutions aiguës. (SCHERK, 2010)

✓ Immunosuppresseurs

L'hépatotoxicité de l'azathioprine est fréquemment identifiée chez l'homme, elle est plus rarement rapportée comme étant à l'origine de l'apparition d'hépatites chroniques chez le chien (SCHERK, 2010).

✓ Molécules de chimiothérapie

Une hépatotoxicité est rapportée pour de nombreuses molécules de chimiothérapie, principalement pour les agents alkylants. On peut citer le méthotrexate (POND, 1982), et la lomustine, qui est une cause fréquente d'hépatites chroniques, d'expression retardée, et dont la sévérité est dépendante de la dose et de la durée du traitement (KRISTAL, 2014).

Certaines molécules (anticonvulsivants, anti-inflammatoires, anti-infectieux, immunosuppresseurs, agents de chimiothérapie) occasionnent des lésions hépatocellulaire pouvant aboutir à des hépatites chroniques fibrosantes. Bien que les hépatites chroniques d'origine médicamenteuses soient rares, il convient de ne pas les oublier lors du recueil des commémoratifs et de l'établissement du diagnostic différentiel.

II.4 TRAITEMENT DES HEPATITES CHRONIQUES

En médecine humaine, les hépatites chroniques étant le plus fréquemment virales, le traitement est aussi bien causal que symptomatique. En médecine vétérinaire, les hépatites chroniques étant le plus souvent idiopathiques, le choix thérapeutique reste limité.

Les mécanismes immuns étant l'élément principal dans la pathogénie des hépatites chroniques canines, leur traitement a consisté durant de nombreuses années en l'emploi d'immunosuppresseurs. Une étude de 151 cas a démontré l'efficacité de l'emploi de la prednisolone à la dose de 1 mg/kg/jour dans le traitement des hépatites chroniques, les animaux ayant reçu de la prednisolone ayant des médianes de survie supérieures aux animaux n'ayant pas reçu de traitement (STROMBECK, 1988). En revanche il est à noter que l'emploi des glucocorticoïdes est contre-indiqué dans le cas des hépatites humaines d'origine virale.

Le traitement peut être spécifique dans le cas des hépatites cupriques. Dans les autres cas, il consiste en un traitement antifibrosant, antioxydant, et symptomatique (voir partie II.5., et Annexe 2 : traitement des complications des hépatites chroniques).

II.4.1. Contrôle de l'accumulation hépatique en cuivre

✓ Diminuer les apports en cuivre

Il est important de limiter les apports en cuivre en dessous de 5 mg/kg de matière sèche. Les aliments vétérinaires ou l'élaboration d'une ration ménagère adaptée permettent de satisfaire ce critère. Par exemple, le fromage, le riz, ou le tofu présentent une faible teneur en cuivre, tandis que la viande, les abats, et les légumes sont à proscrire.

De plus, certaines sources de fibres et certains minéraux inhibent l'absorption du cuivre. Toutefois, il n'existe pas de consensus sur les teneurs à respecter dans le régime alimentaire des animaux souffrant d'hépatites cupriques. (ROUDEBUSH, 2000)

✓ Augmenter l'excrétion du cuivre : agents chélateurs de cuivre

Les chélateurs de cuivre comme la D-pénicillamine ou la trientine fixent le cuivre et augmentent son excrétion urinaire. Le traitement peut durer de quelques mois à quelques années, selon la quantité de cuivre initialement présente et la race du chien, les Bedlington terriers répondant moins rapidement au traitement par exemple que les Dobermans. Le traitement est indiqué chez les chiens dont la teneur en cuivre hépatique est d'environ 750 µg/g. Les animaux asymptomatiques peuvent être traités de façon préventive. (HONECKMAN, 2003). La dose recommandée pour la D-pénicillamine est de 10 à 15 mg/kg PO BID (FAVIER, 2009).

Le zinc stimule la synthèse intestinale de métallothionéine, qui va fixer les métaux lourds avec une plus grande affinité pour le cuivre, le rendant ainsi indisponible à l'absorption intestinale puisqu'il est séquestré dans les entérocytes. Il est par la suite Le cuivre est ensuite excrété par voie fécale lors de la desquamation des entérocytes. L'aliment doit contenir au moins 200 mg de zinc par kilogramme de matière sèche, ou bien une supplémentation peut être réalisée à l'aide de gluconate de zinc à la dose de 3 mg par kilogramme de poids vif par jour en 3 prises, ou à l'aide de sulfate de zinc à la dose de 2 mg par kilogramme de poids vif par jour en 3 prises (ROUDEBUSH, 2000). Une étude menée sur 3 Scottish Terriers et 3 West Highland White Terriers a révélé une amélioration clinique, biochimique, et histologique (diminution de la concentration hépatique en cuivre et diminution de la quantité de fibrose) suite à l'administration de zinc à la dose de charge de 100 mg PO BID pendant 3 mois puis 50 mg en entretien pendant 1 et 2 ans (BREWER, 1992).

II.4.2. Stimulation de l'excrétion des acides biliaires

✓ Acide Ursodesoxycholique

Les stades avancés de fibrose hépatique induisent une cholestase délétère, car les acides biliaires hydrophobes monohydroxylés stagnants induisent des lésions membranaires hépatocytaires. L'acide ursodesoxycholique augmente l'excrétion des acides biliaires par augmentation du pH biliaire, et amplifie la clairance des acides biliaires et des médiateurs de l'inflammation par l'augmentation du flux biliaire. Un effet immunomodulateur est également décrit dans des publications de médecine humaine, l'acide ursodesoxycholique minorant la production d'interleukines et de cytokines par les lymphocytes hépatiques (HONECKMAN, 2003). La dose recommandée est de 10 à 15 mg/kg/j PO.

II.4.3 Molécules antifibrosantes

Bien qu'en médecine humaine la greffe de foie reste actuellement le seul traitement véritable de la cirrhose, certaines molécules sont un espoir pour le traitement des hépatites chroniques canines par leurs propriétés antifibrosantes (FRIEDMAN, 2015).

✓ Glucocorticoïdes

Une étude menée sur 36 chiens traités avec de la prednisolone pendant 6 semaines suggère que les glucocorticoïdes pourraient présenter une activité antifibrotique (FAVIER, 2013). Une seconde étude, menée sur 151 chiens atteints d'hépatite chronique, montre que les chiens ayant reçu des corticoïdes présentent une survie supérieure à celle des chiens non traités (STROMBECK, 1988). Les doses de prednisolone préconisées sont de 1 à 2 mg/kg/j en début de traitement puis une réduction progressive des doses de 50% toutes les 4 semaines est réalisée jusqu'à atteindre des doses de 0,5 mg/kg 1 jour sur 2 (HONECKMAN, 2003). En médecine humaine, il est important de connaître l'étiologie des hépatites chroniques avant de décider d'instaurer un traitement immunosuppresseur, car pour les d'hépatites chroniques d'origine virale, les glucocorticoïdes ont un effet adverse. Toutefois, en médecine vétérinaire, les hépatites ne sont que très rarement d'origine virale, ce qui constitue une indication à l'emploi de glucocorticoïdes en première intention.

✓ Azathioprine

L'Azathioprine inhibe la synthèse d'acides nucléiques en entrant en compétition avec les bases purines. Ainsi, elle limite la division des cellules à haut index de prolifération comme les lymphocytes T intervenant dans l'installation de la fibrose. Il a été démontré en médecine humaine que l'adjonction d'Azathioprine permet de diviser par deux les doses de Prednisolone. Chez les chiens, les doses recommandées sont de 1 mg/kg/j d'Azathioprine et de 0,5 mg/kg/j de Prednisolone, en alternance. Une myélosuppression réversible est décrite lors d'utilisation d'Azathioprine. Toutefois, cette toxicité est rarement rencontrée chez le chien lors d'utilisation à jours alternés (DENOVO, 2010).

✓ Colchicine

La colchicine limite la fibrose en inhibant la sécrétion des procollagénases, nécessaires à l'assemblage des molécules de collagène, en inhibant la libération des médiateurs de la fibrinogenèse, et en stimulant l'activité des collagénases. Un autre effet de la colchicine est qu'elle facilite l'excrétion du cuivre. La dose de colchicine recommandée serait de 0,025 mg/kg/j. Toutefois, l'insuffisance d'études démontrant l'efficacité de la colchicine, et sa toxicité importante n'indiquent pas son utilisation en routine (FAVIER, 2009).

✓ D-pénicillamine

La pénicillamine inhibe la synthèse de collagène par destruction de ponts disulfure et par induction de l'activité de la collagénase. La dose recommandée est de 10 à 15 mg/kg PO BID, à administrer 30 minutes avant les repas. Des effets indésirables de type vomissements et anorexie peuvent survenir. Ils sont généralement résolus en augmentant la fréquence d'administration et en diminuant les doses de chaque prise. (DENOVO, 2010)

II.4.4 Molécules antioxydantes

La survenue d'une peroxydation lipidique est un des mécanismes pathogéniques décrit pour les hépatites chroniques. Ainsi, il est recommandé de compléter la ration des animaux atteints d'hépatites chroniques avec des antioxydants.

✓ Supplémentation en vitamines E et C

Bien qu'aucune étude n'ait démontré l'existence d'une dose spécifique efficace, on peut utiliser de la vitamine E à la dose de 400 à 500 UI PO par jour, et de la vitamine C à la dose de 500 à 1000 mg PO par jour (ROUDEBUSH, 2000).

✓ S-adenosyl-L-méthionine

En médecine humaine, la S-adénosyl-L-méthionine, produit de la dégradation de la méthionine dans le foie, est utilisée en routine comme hépatoprotecteur car elle contribue par son effet antioxydant au maintien de l'intégrité membranaire et à la régénération des hépatocytes, et intervient dans les mécanismes de dégradation de toxines par le foie. L'intérêt de son utilisation n'a toutefois pas été démontré en médecine vétérinaire (DENOVO, 2010). Elle peut être administrée à la dose de 10 mg/kg PO BID (FAVIER, 2009).

✓ Silymarine

Cette molécule extraite du chardon stimule la superoxyde-dismutase responsable de l'élimination des radicaux libres. Par ailleurs, elle présente un effet anti-inflammatoire car elle inhiberait la synthèse des leucotriènes et l'action du TNF α (FAVIER, 2009). Le bénéfice de l'emploi de la Silymarine reste controversé en médecine humaine, et les données sont trop peu nombreuses en médecine vétérinaire pour prouver leur intérêt dans le traitement de la fibrose hépatique chronique. Les doses extrapolées de la médecine humaine sont comprises entre 50 et 250 mg/kg (DENOVO, 2010).

II.5 TRAITEMENT DES COMPLICATIONS DES HÉPATITES CHRONIQUES

Le traitement des complications (encéphalose hépatique, ascite, coagulopathies, ulcérations gastro-intestinales, surinfections bactériennes) est symptomatique. Il est détaillé dans l'annexe 2.

Le traitement des hépatites chroniques peut être classé en deux catégories. D'une part, il est symptomatique et consiste à corriger les dérèglements consécutifs à l'insuffisance de la fonction hépatique. D'autre part, des molécules antifibrosantes et antioxydantes permettent de ralentir la progression de la fibrose voir d'envisager une régression dans certains cas. Les modalités exactes de la régression de la fibrose restent encore à déterminer avec précision, et les propriétés antifibrosantes de nombreuses molécules sont actuellement à l'étude. L'emploi de biomarqueurs dans la constitution d'un score de fibrose présente un réel intérêt dans le cadre de l'évaluation des effets de ces traitements de manière non invasive.

II.6 PRONOSTIC

Au moment du diagnostic, la médiane de survie d'un chien atteint d'hépatite chronique est de 14 à 16 mois. Le pronostic est bien meilleur dans le cas d'un diagnostic précoce : lorsque l'animal présente des signes d'insuffisance hépatique et d'hypertension portale, son espérance de vie n'est que d'une semaine à un mois (DENOVO, 2010), elle est d'une semaine lors de cirrhose avérée (SEVELIUS, 1995).

Pour affiner l'établissement d'un pronostic, il convient de tenir compte des témoins d'une insuffisance hépatique avancée. Ainsi, cliniquement, la présence d'ascite ou de signes d'encéphalose hépatique constitue un facteur pronostic négatif. Les examens sanguins peuvent révéler la présence d'une hypoalbuminémie, d'une hypoglycémie, ou de troubles de la coagulation, qui sont généralement associés à des survies inférieures à une semaine (STROMBECK, 1979). La présence d'une hyperbilirubinémie constitue un facteur pronostic négatif : le risque de survenue d'un décès est de 1,082 chances de plus pour chaque unité de la bilirubinémie supérieure à la norme (GOMEZ SELGAS, 2014). Par ailleurs, certaines présentations sont de plus sombre pronostic : la moyenne de survie des animaux atteints d'une hépatite lobulaire disséquante est de 7 mois avec traitement (FAVIER, 2009).

L'élément clé reste pour le moment l'examen histologique, qui apporte de précieuses précisions pronostiques, en délivrant des informations sur l'étiologie de l'hépatite chronique et son avancement. Ainsi, lorsque l'étiologie de l'hépatite est connue, et/ou que l'animal est présenté en début d'évolution, les ressources thérapeutiques sont bien supérieures : il est possible de traiter la cause et de s'opposer à l'avancement des lésions, voire d'envisager une régression du processus à l'aide de médicaments antifibrotiques (CHANG, 2010 ; DIENSTAG, 2003 ; MUNOZ-LUQUE, 2008 ; POYNARD, 2002). Toutefois, le nombre limité d'études sur le sujet ne permet pas pour le moment d'avancer une relation entre un stade donné de fibrose et une possibilité de régression.

Le pronostic est dépendant du stade de l'hépatite. Si l'on s'intéresse à l'ensemble des hépatites chroniques diagnostiquées, la médiane de survie est de 15 mois au moment du diagnostic, mais le pronostic est bien plus mauvais pour les cas avancés puisque les médianes de survie sont généralement inférieures à un mois lorsque l'animal présente des signes d'insuffisance hépatique, ou que les remaniements tissulaires sont importants.

Actuellement, peu d'études décrivent la relation entre le stade de l'hépatite et la possible régression de la fibrose, ce qui ne permet pas de définir de valeur pronostique positive dans la possibilité d'une régression du processus.

Bien qu'il n'existe pas de consensus quant au pronostic, ces éléments soulignent l'importance d'un diagnostic précoce pour qu'une prise en charge médicale puisse porter ses fruits, et d'un suivi régulier des marqueurs de la fibrose pour évaluer la vitesse d'évolution de la pathologie et l'efficacité du traitement mis en place.

III. Méthodes non invasives d'exploration de la fibrose hépatique

III.1. BIOMARQUEURS HEPATIQUES

III.1.1. Biomarqueurs de classe 1 : composants de la matrice extracellulaire qui reflètent l'activité fibrogénique et fibrolytique

La présence de constituants de la matrice extracellulaire ou de médiateurs intervenant dans sa formation reflète l'activité fibrogénique et fibrolytique : ce sont des biomarqueurs de classe 1.

✓ Acide hyaluronique

L'acide hyaluronique est synthétisé par les cellules de Ito activées et secrété dans le torrent circulatoire. Sa demi-vie sérique est de 6 à 9 minutes.

En 1985, une étude a montré que les taux d'acide hyaluronique mesuré chez 119 patients humains atteints d'hépatite chronique étaient augmentés de façon significative chez les patients atteints de cirrhose (ENGSTROM-LAURENT, 1985).

Une seconde étude menée sur 102 chiens a montré l'existence d'une corrélation entre la pression veineuse portale et les taux d'acide hyaluronique et de laminine avec une sensibilité de 83% et une spécificité de 82% (KROPF, 1991). Plus récemment, une étude menée sur 50 patients humains suggère que l'acide hyaluronique serait le biomarqueur de classe 1 le plus significatif pour évaluer la fibrose, comparativement à la laminine et à la leptine, l'AUROC de l'acide hyaluronique par rapport au stade histologique étant de 0,97, avec une sensibilité de 86% et une spécificité de 88%. (LYDATAKIS, 2006)

La valeur prédictive positive du dosage de l'acide hyaluronique est faible (61%) ce qui n'en fait pas un bon marqueur de la présence de fibrose, mais sa valeur prédictive négative élevée (98%) permet d'exclure de façon fiable la présence d'une fibrose avancée lorsque les taux d'acide hyaluronique ne dépassent pas 60 µg/L (GRESSNER, 2014).

✓ Laminine

Les taux de laminine sont significativement augmentés lors d'hypertension portale (KROPF, 1991). En revanche, ce marqueur n'est pas spécifique de la présence de fibrose, bien que ses valeurs soient augmentées en cas d'hépatite chronique, ce qui explique sa précision diagnostique médiocre (46%) (CAI, 2004).

✓ TGFβ

Le TGFβ (transforming growth factor beta) est un médiateur qui stimule la fibrogenèse en induisant la production et la libération des composants de matrice extracellulaire, et qui inhibe les métalloprotéinases responsables de la fibrolyse. Des taux élevés de TGFβ semblent corrélés avec la sévérité des lésions de fibrose.

Toutefois, ce marqueur semblerait plus spécifique de nécrose que de fibrose hépatocytaire. Par ailleurs, son dosage est difficilement réalisable en raison de l'existence de formes liées à des protéines sériques. (GRESSNER, 2014)

✓ CTGF

Le CTGF (connective tissue growth factor) est une cytokine synthétisée par les hépatocytes, les cellules de Ito, les fibroblastes des espaces porte et les cholangiocytes, qui amplifie les effets fibrogènes du TGF β . Il semblerait inhiber le facteur de croissance BMP-7 au profit du TGF β , par son action sur leurs récepteurs. Par ailleurs, l'expression du CTGF est stimulée par le TGF β . (GRESSNER, 2014)

L'étude de ce biomarqueur sérique présente un intérêt majeur car il reflète l'activité du TGF β , est surexprimé chez les patients atteints de cirrhose, et l'inhibition expérimentale de son expression chez le rat induit une atténuation du processus de fibrose (LI, 2006).

Sa valeur prédictive en fait un marqueur de qualité : elle est de 95,5% pour la fibrose, avec une sensibilité de 100% et une spécificité de 89%, et elle est de 88,7% en cas de cirrhose, avec une sensibilité de 84% et une spécificité de 85% (GRESSNER, 2006).

✓ CSFs

Les CSFs (colony stimulating factors), tels que le granulocyte-macrophage-CSF, sont des chémokines qui interviennent dans la colonisation du tissu hépatique par les cellules souches de la moelle épinière, ainsi que dans leur libération dans la circulation sanguine. Or, 68% des cellules de Ito sont issues de la différenciation de cellules souches en provenance de la moelle épinière. Les CSF constitueraient donc un marqueur de la fibrogenèse. Des études supplémentaires sont nécessaires pour évaluer sa précision. (GRESSNER, 2014)

✓ Glycoprotéine YKL-40

La glycoprotéine YKL-40 constitue un facteur de croissance pour les fibroblastes et est exprimée par les cellules de Ito. Ses taux plasmatiques sont augmentés chez les patients humains atteints d'hépatite C, comparativement à des individus sains. La sensibilité et la spécificité de ce marqueur sont de 80%, avec une précision diagnostique de 81%. Chez les patients atteints d'hépatite chronique alcoolique, la spécificité est de 88%, mais la sensibilité est mauvaise (51%). Les données actuelles ne permettent pas de conclure sur la précision de ce marqueur, et des études supplémentaires sont nécessaires. (GRESSNER, 2014)

✓ Autres glycoprotéines : Alpha2-macroglobuline, Fibronectine, Vitronectine, Tenascine

Diverses glycoprotéines intervenant dans les processus de fibrolyse et fibrogenèse sont synthétisées en grande quantité lors de l'activation des cellules de Ito dès la phase d'inflammation qui précède l'accumulation de matrice extracellulaire.

Parmi ces glycoprotéines, on trouve l'alpha2-macroglobuline qui est un transporteur et un inhibiteur des collagénases. Lors de fibrose hépatique, sa synthèse en excès implique une réduction de l'activité des collagénases.

De plus, il semblerait que la présence de certaines glycoprotéines puisse être un indicateur du stade de fibrose. Ainsi, la présence de fibronectine et de tenascine - glycoprotéines produites par les cellules de Ito dès les premiers stades d'inflammation et présentant une action activatrice des cellules de Ito et de la fibrogenèse via le TGF β - est associée à des stades précoces de fibrose, tandis que la présence de vitronectine semble plutôt associée à des stades plus avancés (LIU, 2016 b ; KOUKOULIS, 2001 ; MA, 2016).

✓ Pro-collagène, acides aminés, glycoprotéines de structure, collagénases

Le collagène est synthétisé à partir de pro-collagène intracellulaire, qui est hydroxylé et glycosylé, puis sécrété hors de la cellule. Des enzymes oxydases catalysent alors leur assemblage en fibres de collagène, protéine à triple hélice composée de chaînes polypeptidiques riches en proline, hydroxyproline, lysine, et autres acides aminés.

Le dosage des molécules qui participent à la formation du collagène peut refléter son taux de synthèse. De même, l'activité fibrolytique peut être reflétée par l'activité des collagénases. Toutefois, ces marqueurs ne se sont pas révélés avoir une précision diagnostique satisfaisante concernant la détection et la caractérisation des processus de fibrose. (GRESSNER, 2014)

Tableau XII : Liste non exhaustive des biomarqueurs de classe 1 pouvant être recherchés, et des prélèvements à réaliser (GRESSNER, 2014)

Biomarqueur de type 1	Prélèvement	Méthode de détection
Enzymes de la MEC - Prolyl-hydroxylase - Monoamine-oxidase - Lysyl-oxidase, Galactosylhydroxy-lysyl-glucosyl-transferase - Collagène-peptidase - N-Acetyl-β-D-glucosaminidase	- Sérum - Sérum - Sérum - Sérum - Sérum, urines	- radio-immunologie - enzymatique - radio-immunologie - enzymatique - enzymatique
Procollagène de type I - Propeptide N-terminal - Propeptide C-terminal	- Sérum - Sérum	- ELISA - radio-immunologie
Procollagène de type III - Procollagène intact - Propeptide N-terminal ou complet	- Sérum - Sérum	- radio-immunologie - radio-immunologie
Procollagène de type IV - Fragment C-terminal (NC1) - Domaine 7S	- Sérum, urines - Sérum, urines	- radio-immunologie, ELISA - radio-immunologie
Procollagène de type VI	- Sérum, urines	- radio-immunologie
Glycoprotéines - Laminine (fragment P1), Leptine - Fibronectine, Unduline, Vitronectine, Tenascine	- Sérum - Sérum	- radio-immunologie, ELISA - ELISA
Glycosaminoglycanes - Acide hyaluronique	- Sérum	- Liaison par radioligand
Médiateurs de la fibrogenèse - TGFβ - CTGF/CCN2	- Sérum, foie - Sérum, foie	- ELISA - ELISA
Protéines matricielles - Glycoprotéine YKL-40 - Pro-métalloprotéinase (MMP-2) - Inhibiteurs tissulaires des métalloprotéinases (TIMP1, TIMP2) - Protéines d'adhésion intercellulaire (ICAM-1)	- Sérum, - Sérum - Sérum - Sérum	- radio-immunologie, ELISA - ELISA - ELISA - ELISA

✓ 5'nucléotidase

La 5' nucléotidase est une enzyme présente au sein des canalicules biliaires, dont le taux est augmenté lors d'affection hépatobiliaire. Elle intervient dans la production d'actine au sein des cellules de Ito et donc dans l'acquisition de leur phénotype contractile. Les souris atteintes de fibrose hépatique dont l'expression de la 5'nucléotidase est désactivée présentent une production de collagène inférieure à celle de souris témoins. (PENG, 2008)

✓ CRP

La protéine C-réactive (CRP) est une protéine spécifique de l'inflammation synthétisée par le foie. L'intérêt de son dosage réside dans sa cinétique : ce marqueur est à la fois précoce et précis car son délai de synthèse est de 6h et le retour aux valeurs usuelles a lieu en quelques heures. Par ailleurs, son taux sanguin - dont les valeurs usuelles sont inférieures à 5 mg/L - augmente rapidement d'un facteur 100 à 1000 lors d'inflammation.

L'installation des hépatites chroniques étant associée à des processus inflammatoires, il semble intéressant d'apparenter la CRP aux biomarqueurs de classe 1. Cette idée est appuyée par les résultats d'études menées en médecine humaine révélant des taux de CRP significativement élevés chez les individus atteints d'hépatite chronique B et C (MA, 2015 ; SJOWALL, 2012). Toutefois ces résultats sont à interpréter avec précaution, certaines études ne montrant pas d'élévation significative du taux CRP, ou montrant que l'élévation des taux de CRP sont corrélés à une étiologie (LIU, 2016 a). Des études supplémentaires s'avèrent donc nécessaires afin d'évaluer l'applicabilité du dosage de la CRP dans le cadre du diagnostic des hépatites chroniques au sein de l'espèce canine, où les étiologies diffèrent de celles de l'espèce humaine.

III.1.2 Biomarqueurs de classe 2 : biomarqueurs indirects de la fibrose hépatique reflétant l'activité fonctionnelle hépatique

Les biomarqueurs de classe 2 sont des marqueurs de l'intégrité et de la fonctionnalité hépatocytaires. Le foie ayant des rôles divers dans l'organisme, ces paramètres sont variés.

III.1.2.1 Marqueurs de cytolyse :

✓ Alanine aminotransférase (AIAT)

Caractéristiques

Bien qu'elle soit produite par plusieurs organes, chez le chien l'activité hépatique de l'AIAT est 10 000 fois supérieure aux autres, expliquant sa spécificité dans l'évaluation des dommages hépatocellulaires. L'AIAT est un marqueur précoce et spécifique de lésions hépatocellulaires ou de modification -réversible ou non- de la perméabilité membranaire des hépatocytes chez le chien : en cas de nécrose ou d'inflammation, sa concentration est multipliée par cent en 24 à 48 heures, tandis que les élévations sont beaucoup moins élevées en cas de cholestase. Par ailleurs, il a été montré que son activité enzymatique est plus importante dans les zones périportales (tandis que l'aspartate aminotransférase a une activité plus importante autour de la veine centrolobulaire). L'étude concomitante de ces deux marqueurs pourrait possiblement refléter la localisation de l'atteinte.

L'augmentation de la concentration plasmatique de l'AIAT est proportionnelle au nombre de cellules lésées, mais ne permet en aucun cas de distinguer une lésion localisée et profonde d'une lésion diffuse et superficielle.

Bien que ce marqueur soit précoce, sa clairance est lente (temps de demi-vie plasmatique de 50h), ce qui implique que la restauration de l'intégrité hépatocellulaire ne peut pas être évaluée avant deux à trois semaines. (TENNANT, 2008)

Prélèvement et conservation

Le prélèvement est conservé dans un tube hépariné. Il est stable pendant une journée à une température de 22°C, et pendant 7 jours si il est conservé entre 2 et 8°C.

Diagnostic différentiel

Il convient de noter qu'en cas de cholestase avancée, les taux d'AIAT peuvent être très élevés : ce marqueur est spécifique de la présence de lésions hépatocellulaires mais ne reflète pas leur étiologie. Par ailleurs, les valeurs peuvent être faussées par la présence concomitante d'une hyperlipémie ou d'une hémolyse.

✓ Aspartate aminotransférase (AsAT)

Caractéristiques

L'aspartate aminotransférase est une enzyme cytosolique (20%) et mitochondriale (80%). Elle n'est pas spécifique du foie car elle est aussi produite dans le cœur, les hématies, les muscles, les reins, et le pancréas.

Son intérêt réside dans sa sensibilité élevée et dans sa demi-vie bien plus courte que celle de l'AIAT : la demi vie de l'AsAT cytosolique est de 14h et celle de l'AsAT mitochondriale de 6h. Par ailleurs, en cas de nécrose ou d'inflammation hépatique, les taux plasmatiques sont multipliés par 100 en 24-48h. (TENNANT, 2008)

Prélèvement et conservation

Le prélèvement est conservé dans un tube hépariné. Ce marqueur est stable pendant une journée à une température de 22°C, et pendant 7 jours à une température comprise entre 2 et 8°C.

Diagnostic différentiel

Il convient d'exclure les autres causes d'augmentation des AsAT à l'aide du dosage de marqueurs spécifiques (par exemple le dosage de la créatine kinase pour investiguer la présence de lésions musculaires), et de lui associer le dosage des AIAT afin d'obtenir une certitude quant à la présence de lésions hépatocellulaires.

✓ Sorbitol deshydrogénase (SDH)

Caractéristiques

Cette enzyme, qui catalyse la réaction de réduction du sorbitol (issu du glucose) en fructose, est très spécifique de l'activité des hépatocytes. En revanche, elle n'est pas spécifique d'une pathologie, et son dosage ne semble pas présenter d'avantage diagnostique comparativement au dosage de l'AIAT. (TENNANT, 2008)

Prélèvement et conservation

Le prélèvement est conservé dans un tube sec ou hépariné. L'enzyme étant peu stable, le dosage doit idéalement être effectué immédiatement après la réalisation du prélèvement, ou dans les 8-12h suivantes en étant conservé à la température de 4°C.

Diagnostic différentiel

Le taux de SDH est augmenté en cas de diabète sucré.

✓ Lactate deshydrogénase (LDH)

Caractéristiques

La lactate deshydrogénase catalyse la réaction de conversion de l'acide pyruvique en L-lactate ainsi que l'oxydation du 2-hydroxybutyrate. Une augmentation importante du taux de LDH est un signe précoce de souffrance cellulaire. Cette enzyme, présente dans de nombreux tissus et organes (rein, coeur, muscles, pancréas, rate, foie, cerveau, poumons, peau, globules rouges), prend la forme de 5 isotypes. Lors de fibrose hépatique, on rencontre une élévation de l'activité de LDH totale, de l'isoenzyme 4 et de l'isoenzyme 5, cette dernière étant spécifique du foie et des muscles squelettiques. (AHMAD, 2012)

Prélèvement et conservation

Le prélèvement est conservé dans un tube sec ou hépariné. L'enzyme étant peu stable, le dosage doit idéalement être effectué immédiatement après la réalisation du prélèvement, ou dans les 6h suivantes en étant conservé à la température de 4°C.

✓ Glutamate deshydrogénase (GDH)

Caractéristiques

La glutamate deshydrogénase est une enzyme mitochondriale hépatique et rénale, qui intervient dans la synthèse de l'urée. Il existe d'autres productions (rénale, musculaire et intestinale) mais elles ne passent pas dans le plasma. Ce marqueur est spécifique de lésions hépatocellulaires, toutefois son activité hépatique limitée chez le chien est à l'origine de sa faible sensibilité et en fait un marqueur peu intéressant.

✓ Arginase

Caractéristiques

Il convient de distinguer l'arginase de type II, qui est une enzyme mitochondriale présente dans les reins, de l'arginase de type I, spécifique du foie, qui intervient dans la synthèse de l'urée. L'activité hépatique de l'arginase étant bien supérieure à celle des autres organes, elle constitue un marqueur spécifique. L'élévation de ses taux plasmatiques est un indicateur de nécrose hépatocellulaire avancée. L'avantage majeur de ce marqueur est sa courte demi-vie et donc son retour à la normale rapide lors de la restauration de l'intégrité hépatique. (TENNANT, 2008)

Prélèvement et conservation

Le prélèvement est conservé dans un tube sec ou hépariné, et il convient de l'analyser immédiatement après sa réalisation.

III.1.2.2 Marqueurs d'affections hépatobiliaires :

✓ Phosphatases alcalines (PAI)

Caractéristiques

Les phosphatases alcalines sont des métalloprotéines dont la concentration plasmatique est augmentée lors d'hépatite chronique. Bien que la mesure des phosphatases alcalines soit assez sensible d'une anomalie hépatobiliaire, elle manque de spécificité car sa production est aussi osseuse, placentaire, intestinale, et rénale. Ainsi, plusieurs isoenzymes sont identifiées chez le chien, dont une isoenzyme hépatique cortico-inductible, qui

augmente lors d'hypercorticisme (spontané ou iatrogène). Par ailleurs, l'augmentation des valeurs des PAI indique aussi bien la présence d'une cholestase que d'un processus de fibrose avancé associé à un dysfonctionnement hépatique majeur. (TENNANT, 2008)

Diagnostic différentiel

Les causes d'augmentation de la valeur des PAI sont multiples. Pour interpréter le résultat de la mesure, il convient d'exclure les autres causes d'augmentation du taux plasmatique de phosphatases alcalines : activité ostéoblastique intense chez l'adulte ou chez le jeune en croissance, hypercorticisme... (TENNANT, 2008). Le dosage additionnel de la 5'nucléotidase, enzyme présente au sein des parois des canalicules biliaires, permet chez l'adulte de distinguer une pathologie hépatobiliaire - lorsque son taux et celui des PAI sont tous deux augmentés - d'une pathologie osseuse - lorsque son taux est dans les valeurs usuelles tandis que le taux de PAI est augmenté.

✓ Gammaglutamyl transférase (GGT)

Caractéristiques

La gammaglutamyl transférase est une enzyme membranaire hépatique (hépatocytes de la zone périportale), biliaire, rénale, pancréatique et intestinale. Son activité est augmentée lors de stress oxydatif ou de destruction cellulaire car elle est alors dissoute dans le plasma. Son dosage est plus spécifique de lésions hépatobiliaires, en priorité choléstatiques, que le dosage des PAI, mais il est nettement moins sensible que ce dernier. Ce marqueur est toutefois peu sensible, son activité n'étant que modérément augmentée, et de façon ponctuelle, en cas de lésions hépatocytaires. (TENNANT, 2008)

Diagnostic différentiel

Il convient d'exclure une cholestase, une hyperplasie biliaire, ou encore un phénomène d'induction par les corticostéroïdes, le phénobarbital, la primidone.

Tableau XIII : Récapitulatif des principaux marqueurs de l'intégrité des hépatocytes : valeurs usuelles chez le chien, méthodes de dosage, interprétation (The Merck Veterinary Manual, 2015b ; STOCKHAM, 2008 ; TENNANT, 2008)

Paramètre fonctionnel	Valeurs usuelles chez le chien	Interprétation	Demi-vie
AIAT	10-109 U/L	Précoce, spécifique : lésions hépatocytaires,	2-3 j
AsAT	13-15 U/L	Sensible	< 24 h
LDH	0-236 U/L	Spécifique, peu stable	< 6 h
SDH	0-20 U/L	Spécifique : lésions hépatocytaires, peu stable	4 h
GDH	0-50 U/L	Spécifique mais peu sensible	8 - 14 h
Arginase	0-0,03 U/L	Spécifique : nécrose hépatocytaire	< 2 h
GGT	1,0-9,7 U/L	Peu spécifique : affection hépatobiliaire	3 j
PAI	1-114 U/L		6 min - 3j

III.1.2.4 Marqueurs de la fonction hépatique :

✓ Fonction de synthèse protéique

Le foie est le lieu de synthèse de 90% des protéines de l'organisme et de la totalité des protéines plasmatiques. Une insuffisance hépatique s'accompagne donc d'un déficit de toutes ces protéines et de conséquences très diverses. Parmi ces protéines, on peut citer l'albumine et les globulines à l'origine de la régulation de la pression oncotique, les lipoprotéines, la céruloplasmine transportant le cuivre, la ferritine et la transferrine intervenant dans le métabolisme du fer, les facteurs de coagulation synthétisés exclusivement par le foie hormis le facteur VIII, ainsi que les facteurs anticoagulants et procoagulants. (CHROSTEK, 2014 ; ZENG, 2013 ; BRUNS, 2016 ; ROTHUIZEN, 2009 a ; TISCHENDORF, 2016)

Bien que les marqueurs de la fonction de synthèse protéique hépatique représentent la sévérité des répercussions fonctionnelles, ils présentent dans l'ensemble une mauvaise spécificité pour le foie. Ainsi, la spécificité du dosage de l'albumine est mauvaise car, bien que sa production soit exclusivement hépatique, il peut y avoir des pertes à prendre en compte, par exemple d'origine intestinale dans les cas d'entéropathies exsudatives, d'origine rénale dans les cas de néphropathies. Ces marqueurs sont dans l'ensemble peu sensibles et tardifs : la globulinémie, est généralement diminuée, mais il est possible d'observer une hyperglobulinémie en début d'évolution, lorsque l'hépatite est encore active (WEBSTER, 2010). Toutefois, certains marqueurs se révèlent plus intéressants à étudier que d'autres : c'est le cas de la HDL dont le taux varie de façon plus marquée que celui de la LDL, ou bien des facteurs anticoagulants tels l'antithrombine et le facteur XI dont les taux varient plus précocement que ceux des facteurs procoagulants habituellement étudiés (CHROSTEK, 2014 ; TISCHENDORF, 2016).

✓ Fonction de synthèse des acides gras, des triglycérides, du cholestérol

Le foie est le lieu de synthèse des acides gras, des triglycérides, et du cholestérol. Une atteinte hépatique chronique s'accompagne donc d'une diminution de leurs concentrations sériques. Il convient toutefois d'effectuer le diagnostic différentiel avec une malnutrition, une maldigestion, une malabsorption, ou un hypercorticisme. (LIDBURY, 2013)

✓ Fonction de synthèse des acides biliaires

Caractéristiques

Le foie est le lieu de synthèse des acides biliaires, qui sont les métabolites du cholestérol. Des sels biliaires primaires sont formés au niveau du foie, stockés dans la vésicule biliaire, puis libérés dans le tractus digestif lorsque la bile est sécrétée. Ils sont ensuite conjugués avec un acide aminé en sels biliaires secondaires, dans les intestins. 98% des sels biliaires secondaires subissent un cycle entéro-hépatique et sont réabsorbés. 5% de cette fraction réabsorbée passe dans la circulation systémique : ce sont ces 5% qui sont explorés lors des tests fonctionnels.

L'augmentation de la concentration sérique en acides biliaires oriente donc vers une atteinte hépatobiliaire. Les inconvénients de ce marqueur sont son manque de spécificité (pas de distinction entre une pathologie touchant le parenchyme hépatique et une pathologie concernant les voies biliaires), et le manque de corrélation entre ses valeurs sériques et la sévérité de l'atteinte observée à l'examen histologique. (WEBSTER, 2010)

✓ Fonction de conjugaison de la bilirubine :

Caractéristiques

La bilirubine est le produit du catabolisme de l'hème par les cytochromes, les peroxydases et les catalases hépatiques. La bilirubine insoluble est liée à l'albumine plasmatique. Elle est conjuguée dans le foie par estérification avec le glucuronate, devient alors soluble, et elle est sécrétée dans la bile, qui est déversée dans l'intestin puis la bilirubine est éliminée sous différentes formes. (WEBSTER, 2010)

Les méthodes de dosage actuelles permettent de différencier la bilirubine conjuguée de la bilirubine totale. Ainsi l'augmentation des valeurs de la bilirubine totale sans augmentation des valeurs de la bilirubine conjuguée sera révélatrice d'une atteinte pré-hépatique ou hépatique, tandis qu'une augmentation des valeurs de la bilirubine conjuguée sera révélatrice d'un phénomène de cholestase. Ce marqueur n'est toutefois pas spécifique, d'autant dans le cadre des hépatites chroniques l'association entre des lésions hépatocytaires et des phénomènes de cholestase est relativement fréquente (SCHERK, 2010). Toutefois elle présente une valeur pronostique : une augmentation de ses valeurs plasmatiques de 1 U/L augmente le risque de mortalité de 1,082 (GOMEZ SELGAS, 2014).

Prélèvement et conservation

Le prélèvement, placé dans un tube sec gélosé ou hépariné, est à conserver entre 2 et 8°C à l'abri de la lumière, et le dosage doit impérativement être réalisé dans les 7 jours.

Diagnostic différentiel

Le dosage de la bilirubine totale est non spécifique, il convient de réaliser le diagnostic différentiel entre une origine pré-hépatique (par exemple un phénomène d'hémolyse importante), hépatique, ou post-hépatique (par exemple une obstruction des voies biliaires).

✓ Fonction d'épuration de l'ammoniac : ammoniémie, urémie

Le foie est le lieu de dégradation de l'ammoniac et de formation de l'urée. Lors d'une atteinte hépatique on observera une hyperammoniémie et une hypourémie. Le dosage de l'ammoniac n'est toutefois pas très sensible, et il est peu recommandé en raison de l'instabilité des ions ammonium : il convient de centrifuger le prélèvement immédiatement après sa récolte, et de le conserver dans de la glace fondante. Le dosage doit être réalisé dans les 30 minutes suivant le prélèvement (LIDBURY, 2013).

✓ Fonction de régulation de la glycémie

L'hypoglycémie est rare dans le cas des insuffisances hépatiques acquises, et elle survient tardivement, car le foie est capable d'assurer l'homéostasie du glucose par néoglucogenèse jusqu'à ce que sa fonction soit réduite à 20%. La mesure de la glycémie est donc un mauvais marqueur des répercussions des lésions hépatocytaires (LIDBURY, 2013).

Un examen relativement spécifique est l'épreuve de tolérance au galactose, le foie étant le seul organe qui utilise le galactose en quantités importantes. Elle consiste à injecter une solution de galactose à 50% par voie intraveineuse à raison de 1 mL par kilogramme de poids corporel, puis à doser le taux de galactose plasmatique à plusieurs intervalles de temps afin d'établir une cinétique. Des taux élevés sont en faveur d'un trouble hépatique. Toutefois, cet examen est long, ce qui limite son applicabilité en routine. (TENNANT, 2008)

Tableau XIV : Récapitulatif des principaux marqueurs de la fonction hépatique dosables en routine, et valeurs usuelles chez le chien (The Merck Veterinary Manual, 2015b)

Paramètre fonctionnel	Valeurs usuelles chez le chien	Interprétation
Protéines totales	54-75 g/L	Non spécifiques, marqueurs tardifs, mais représentatifs de la sévérité de l'atteinte fonctionnelle
Albumine	23-31 g/L	
Globulines	27-44 g/L	
Facteurs de coagulation	Voir partie I.3.2	Non spécifiques, non sensibles, non quantitatifs
Triglycérides	0,2-1,3 mmol/L	Peu spécifiques, marqueurs tardifs
Cholestérol	3,5-7,2 mmol/L	
Acides biliaires à jeun	<10 µmol/L	Spécifiques d'une atteinte hépatobiliaire, non quantitatifs
Bilirubine	0-5,1 µmol/L	Spécifique d'une atteinte hépatobiliaire, valeur quantitative pronostique
Urée	2,9-10 mmol/L	Marqueur tardif, peu sensible
Glucose	4,2-6,6 mmol/L	Marqueur tardif, peu sensible

III.2 INTÉRÊTS ET LIMITES DES BIOMARQUEURS

Les biomarqueurs de classe 1 présentent l'intérêt d'être spécifiques des processus de fibrose hépatique, et d'être très bien corrélés avec les méthodes histologiques de diagnostic d'hépatopathies chroniques fibrosantes. Ils permettent d'identifier la présence d'une activité de fibrogenèse, mais leur limite principale est qu'ils ne renseignent pas précisément sur l'étendue ni sur le degré de fibrose. Par ailleurs, leur dosage est relativement coûteux. Ainsi, il semble que l'étude de ces marqueurs soit plus adaptée au cadre de la recherche et à leurs applications thérapeutiques. De nombreux biomarqueurs de classe 1 restent à découvrir et à étudier.

Les biomarqueurs de classe 2 permettent l'évaluation des répercussions fonctionnelles des lésions hépatocytaires, mais ils manquent pour la plupart de spécificité, et leurs valeurs peuvent être influencées par des affections intercurrentes. Chaque paramètre ne doit donc pas être interprété seul, mais en relation avec les autres. C'est pour cela que des scores ont été créés en médecine humaine, afin de déterminer quelles combinaisons entre ces paramètres permettent une meilleure performance diagnostique.

III.3 TESTS DISPONIBLES EN MEDECINE HUMAINE UTILISANT DES BIOMARQUEURS

✓ Fibrotest®

Le Fibrotest®, développé par l'équipe du professeur Thierry Poynard correspond à un index de fibrose, qui se veut estimer le score METAVIR. Il est valable quelle que soit l'étiologie de l'hépatite chronique (HALFON, 2008). Il combine le dosage de 5 marqueurs sériques :

- Bilirubine totale
- Gammaglutamyl transférase
- Haptoglobine
- Alpha2 macroglobuline
- Apolipoprotéine A1

L'âge et le sexe du patient sont pris en compte dans le calcul du score. L'index obtenu avec le Fibrotest® est proportionnel à la quantité de fibrose. Il donne une valeur comprise entre 0 et 1, qui est ensuite convertie en fonction des classifications histologiques, le plus souvent la classification employée est le score METAVIR. Pour faciliter l'interprétation visuellement, le résultat est accompagné d'un graphique en couleurs définissant trois classes de sévérité. La couleur verte correspond à une fibrose absente ou minime, la couleur orange correspond à une fibrose modérée, et la couleur rouge à une fibrose sévère).

FibroTest	METAVIR <i>Stade de fibrose estimé</i>	Knodell <i>Stade de fibrose estimé</i>	Ishak <i>Stade de fibrose estimé</i>
0.75-1.00	F4	F4	F6
0.73-0.74	F3-F4	F3-F4	F5
0.59-0.72	F3	F3	F4
0.49-0.58	F2	F1-F3	F3
0.32-0.48	F1-F2	F1-F3	F2-F3
0.28-0.31	F1	F1	F2
0.22-0.27	F0-F1	F0-F1	F1
0.00-0.21	F0	F0	F0

Figure 18 : Conversion d'un résultat de Fibrotest® selon les classifications histologiques METAVIR, de Knodell, et d'Ishak.

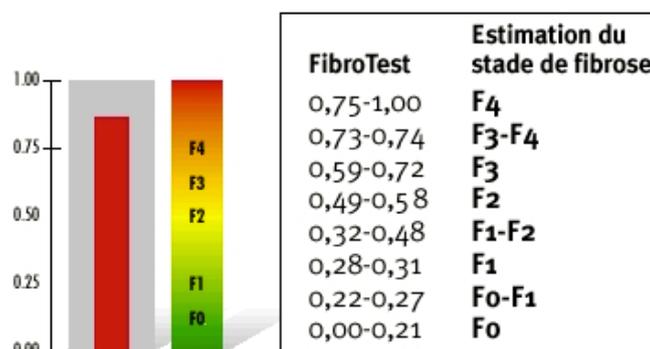


Figure 19 : Conversion d'un résultat de Fibrotest® selon le score Metavir

La précision diagnostique (proportion de vrais positifs et de vrais négatifs par rapport aux résultats histologiques) est estimée à 84%, selon une étude menée sur 7985 sujets. Le test est précis quelque soit le degré de fibrose. Ainsi, la précision diagnostique est de 84% pour la fibrose avancée et de 90 % pour la cirrhose (HALFON, 2008).

Les résultats peuvent être faussés notamment par la présence d'une hémolyse ou d'une cholestase extra hépatique pour le dosage de la bilirubine, par un syndrome inflammatoire pour le dosage de l'alpha2 macroglobuline.

✓ Actitest®

L'Actitest® ajoute le dosage de l'alanine aminotransférase à celui des marqueurs du Fibrotest®. La conversion du résultat selon les classifications histologiques définit le grade (ou l'activité nécroinflammatoire) de l'hépatite, avec une précision diagnostique de 79% (POYNARD, 2010).

Les résultats peuvent être faussés par la présence d'hémolyse ou d'hyperlipémie.

ActiTest	METAVIR <i>Grade d'activité estimée</i>	Knodell <i>Grade d'activité estimée</i>	Ishak <i>Grade d'activité estimée</i>
0.63-1.00	A3	A5	A4
0.61-0.62	A2-A3	A4	A3
0.53-0.60	A2	A3	A2
0.37-0.52	A1-A2	A1-A3	A1-A2
0.30-0.36	A1	A1	A1
0.18-0.29	A0-A1	A0-A1	A0-A1
0.00-0.17	A0	A0	A0

Figure 20 : Conversion d'un résultat d'Actitest® selon les classifications histologiques METAVIR, de Knodell, et d'Ishak.

✓ Fibrometer®

Le Fibrometer®, développé par l'équipe du professeur Paul Calés, dose les taux de :

- Bilirubine totale
- Gammaglutamyl transférase
- Alpha2 macroglobuline
- Alanine aminotransférase
- Aspartate aminotransférase
- Acide hyaluronique
- Ferritine
- Glucose
- Plaquettes
- Prothrombine
- Urée

Différentes combinaisons de ces marqueurs sont employées en fonction de l'étiologie de l'hépatopathie afin de produire les résultats les plus précis possibles. Ainsi, les hépatopathies virales sont évaluées par le Fibromètre V, les hépatopathies alcooliques par le Fibromètre A, et les hépatopathies métaboliques par le Fibromètre S. Nous n'en détaillerons pas les particularités puisque les étiologies sont différentes en médecine vétérinaire. L'âge et le sexe du patient sont pris en compte dans le calcul du score.

Les résultats, compris entre 0 et 1, sont proportionnels à la gravité de la fibrose et sont convertis selon le score METAVIR. Comme pour le Fibrotest®, le résultat est accompagné d'un graphique en couleurs définissant trois classes de sévérité.

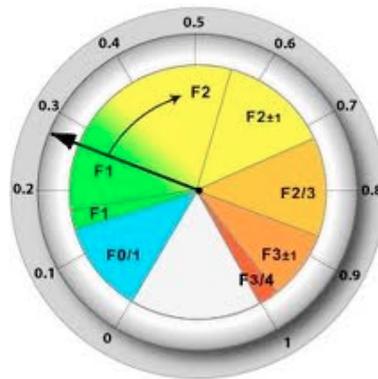


Figure 21 : Conversion d'un résultat de Fibromètre® selon le score METAVIR

La précision diagnostique est estimée à 89%, selon une étude menée sur 121 sujets, et apparaît meilleure que celle du Fibrotest, qui est de 81% dans cette étude (CALES, 2005).

Les résultats peuvent être faussés notamment par la présence d'une hémolyse ou d'une cholestase extra hépatique pour le dosage de la bilirubine, par un déficit en vitamine K iatrogène ou secondaire à une cholestase pour le dosage de la prothrombine, par un syndrome inflammatoire pour le dosage de l'alpha2 macroglobuline, par la présence concomitante d'une insuffisance rénale d'origine pré-rénale ou rénale pour le dosage de l'urée.

✓ Hépascore®

L'Hépascore®, élaboré pour les patients atteints d'hépatite C, dose les marqueurs biochimiques suivants :

- Bilirubine totale
- Gammaglutamyl transférase
- Alpha-2-macroglobuline
- Acide hyaluronique

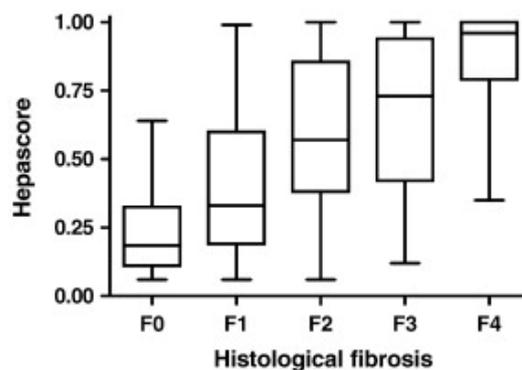


Figure 22 : Conversion d'un résultat d'Hépascore®, d'après ADAMS, 2005

Le résultat donné par l'Hépascore est fiable quel que soit le stade de l'hépatite. La fiabilité est en moyenne de 90% dans le cadre l'hépatite C, et elle est de 82% lorsque l'on applique le score aux autres hépatites (ADAMS, 2005).

L'âge et le sexe du patient sont pris en compte dans le calcul du score. Comme pour les tests précédents, les résultats peuvent être faussés par la concomitance de pathologies intercurrentes.

✓ Autres scores

De nombreux autres scores existent en médecine humaine, mais leur emploi n'est pas validé par la haute autorité de santé pour des raisons techniques (difficulté de standardisation du dosage de certains paramètres), méthodologiques, ou en raison de l'insuffisance des performances diagnostiques permises par ces tests. On peut citer parmi eux le Fibrospect ®, l'ELFscore ®, le score AAR ®, ou le score APRI ®.

Les scores basés sur la mesure de biomarqueurs sériques présentent l'avantage d'être non invasifs, quantitatifs, et parfaitement reproductibles, en s'affranchissant du biais lié à l'opérateur, ce qui en fait un excellent outil pour la caractérisation et le suivi des hépatites chroniques. Les scores validés en médecine humaine dosent principalement des biomarqueurs de type 2, dont le dosage est fiable et reproductible, donc utilisable en routine, contrairement aux biomarqueurs de type 1. Toutefois, ces scores ne sont pas spécifiques du foie, et des affections intercurrentes peuvent en modifier les résultats. Ainsi, leur intérêt semble plutôt résider dans l'orientation des hypothèses diagnostiques et dans le suivi que dans le diagnostic lui-même.

IV. Etude de biomarqueurs hépatiques

L'étude présentée ci-après vise à déterminer l'applicabilité d'un score basé sur l'étude de biomarqueurs sanguins dans le diagnostic ou le suivi des hépatites chroniques. Le gold standard du diagnostic et du suivi des hépatites chroniques étant à l'heure actuelle la biopsie hépatique, dont l'interprétation est exprimée le plus souvent selon le score METAVIR, l'étude présentée s'attache à évaluer la précision de 20 biomarqueurs dans le diagnostic des hépatites chroniques, puis à établir un score constitué d'une combinaison de biomarqueurs, et à évaluer sa validité par rapport aux informations obtenues par l'analyse histologique.

IV.1 RECRUTEMENT DES CANDIDATS

L'étude réalisée intéresse 61 chiens de toute race recrutés entre janvier 2014 et avril 2015 au sein de 5 structures vétérinaires : la clinique vétérinaire des Cerizios à Lyon, de la clinique vétérinaire Aquivet à Eysines, du centre hospitalier vétérinaire de Frégis à Arcueil, de l'école nationale vétérinaire de Maisons-Alfort et de VetAgroSup (école nationale vétérinaire de Lyon).

Les critères d'inclusion des individus dans l'étude étaient une élévation persistante de marqueurs de la fonction hépatique (PAI et AIAT), ainsi que la visualisation de lésions diffuses et non focales à l'examen échographique. Les conditions de réalisation des biopsies étaient un statut de coagulation normal et un taux de phosphatases alcalines supérieur à 140 U/L. Pour chaque individu sélectionné, le statut nécro-inflammatoire et de fibrose hépatique a été déterminé par examen histologique, aucune maladie intercurrente n'est connue, et aucun traitement préalable ou concomitant susceptible d'influencer les valeurs des paramètres biochimiques (phénobarbital ou glucocorticoïdes par exemple) n'est toléré.

Parmi les 61 chiens de l'étude, 6 chiens de race Beagle ont été sélectionnés au sein d'un troupeau d'expérimentation de VetAgroSup pour constituer un groupe témoin. Les données cliniques, biochimiques et histologiques permettaient d'exclure avec certitude l'existence d'une hépatite chronique chez ces chiens, et leurs historiques clinique et thérapeutique étaient entièrement connus.

Le protocole de l'étude ainsi que le recrutement des Beagles ont été étudiés et validés par le comité d'éthique de VetAgroSup, et l'inclusion des cas a été effectuée avec le consentement éclairé de chaque propriétaire.

IV.1 MATÉRIEL ET MÉTHODES

✓ Analyses biochimiques sanguines

Des échantillons de sang ont été prélevés sur tube hépariné et sur tube sec pour chaque animal au moment de la réalisation de la biopsie hépatique, puis centrifugés afin d'isoler du plasma et du sérum. Les tubes ont été conservés à -80°C , et les analyses ont été réalisées au laboratoire de biologie médicale de VetAgro Sup dans les 3 mois suivant le prélèvement, à l'aide d'un seul automate (Konelab™ 30i). Le dosage du TGF- β a été réalisé à l'aide d'un kit de dosage rapide par méthode ELISA (Quantikine® ELISA kit TGF- β 1 Assay).

Les paramètres de la coagulation (PT, aPTT, taux de fibrinogène) ont été évalués à partir de l'analyse du plasma, et les 18 biomarqueurs à partir de l'analyse du sérum.

✓ Analyses histologiques

La réalisation des biopsies hépatiques a été effectuée par abord échoguidé à l'aide d'aiguilles 16G ou de pistolets à biopsie (Thru-cut), ou par abord laparoscopique. Pour chaque chien, un minimum de 2 biopsies provenant de 2 lobes différents a été respecté. Les animaux pour lesquels les fragments de biopsies étaient jugés de taille insuffisante ou abîmés ont été écartés de l'étude.

Les fragments biopsiés ont été conservés dans une solution contenant du formaldéhyde à 10%, puis insérés dans de la paraffine, coupés à une épaisseur de 3 μm , puis déparaffinés et colorés avec de l'hématoxyline et de l'éosine pour l'analyse histologique standard, et avec du rouge Sirius pour l'analyse des processus de fibrose.

L'examen histologique a été réalisé par un seul spécialiste non informé des résultats des analyses biochimiques, à l'aide d'un microscope optique (Leica® DM 2000). La détermination de l'activité de l'hépatite et du stade de fibrose par méthode semi-quantitative a été exprimée selon le score METAVIR (voir partie I.3.5.), et suivant les critères de la WSAVA (World Small Animal Veterinary Association).

La mesure de la quantité de collagène a été réalisée par analyse morphométrique : les fragments colorés au rouge Sirius observés au microscope électronique (Leica DM 2000) ont été photographiés (appareil LAS® version 4) puis transférés dans un logiciel de traitement d'images (Adobe® Photoshop CS6). Les images obtenues ont été analysées automatiquement par un logiciel de traitement d'images développé par la société d'analyse tissulaire Novotec, permettant de connaître la surface de collagène présente sur chaque fragment biopsié, et définissant ainsi la densité de collagène du fragment (surface de collagène / surface totale du fragment).



Figure 23 : Fragment biopsié après coloration au rouge Sirius

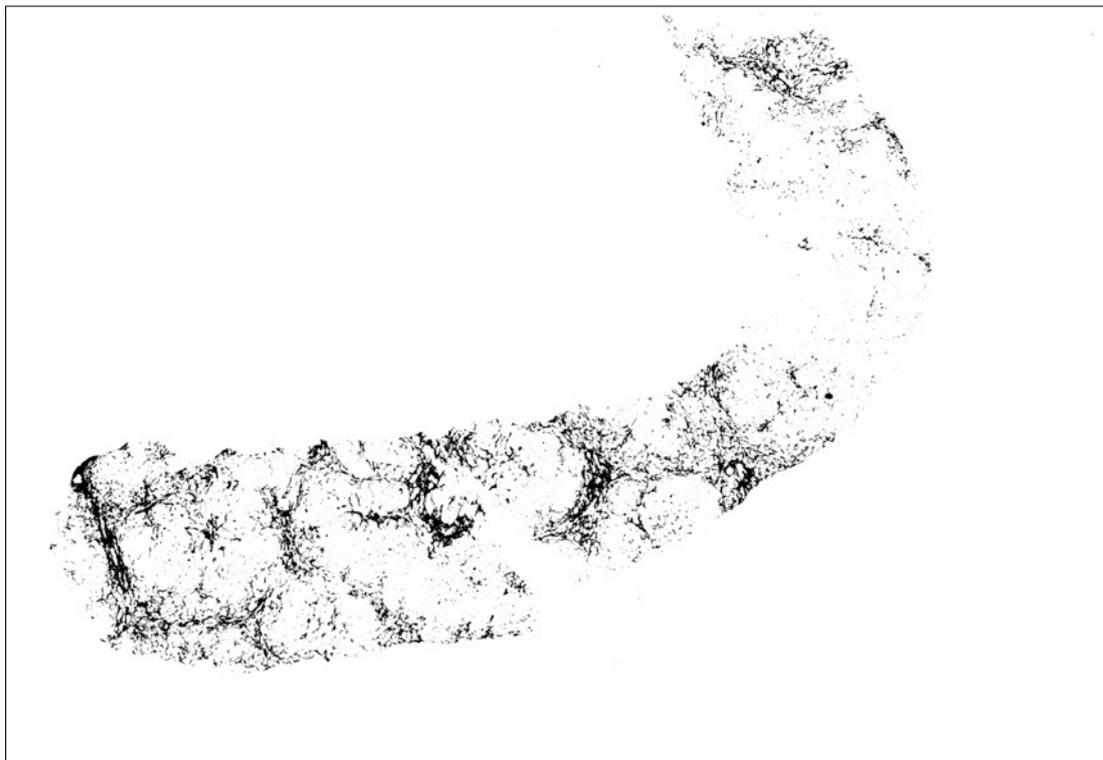


Figure 24 : Fragment biopsié après traitement par un logiciel de traitement d'images

IV.2 CHOIX DES BIOMARQUEURS ETUDIÉS

Les paramètres biochimiques sanguins qu'il a été choisi de mesurer pour chaque individu sont au nombre de 17 :

Marqueurs de cytolyse hépatocytaire

- Alanine aminotransférase (AIAT)
- Aspartate aminotransférase (AsAT)

Marqueurs d'affection hépatobiliaire

- Phosphatases alcalines (PAI)
- Gammaglutamyl transférase (GGT)
- Glutamate déshydrogénase (GLDH)
- Lactate déshydrogénase (LDH)

Marqueurs de la fonction hépatique

- Bilirubine totale
- Acides biliaires à jeun
- Urée
- Protéines totales (PT)
- Albumine
- Glucose
- Cholestérol
- Triglycérides

Ionogramme

- Sodium
- Chlorures
- Potassium

Le choix des biomarqueurs étudiés a été conditionné par le besoin d'applicabilité du test dans le cadre d'un diagnostic de routine réalisé par le praticien. Il convient donc que les paramètres soient dosables de façon aisée et reproductible.

Le dosage des acides biliaires n'a été choisi qu'à jeun, afin de ne réaliser qu'une seule prise de sang pour le calcul du score. Cependant, ce marqueur a rapidement été écarté car sa valeur est faussée en cas de cholestase concomitante, ce qui est fréquent dans les cas de troubles hépatiques, et lors d'hyper-bilirubinémie : les deux molécules étant fixées par l'albumine, le taux d'acides biliaires ne reflète alors plus la clairance hépatique.

Enfin, il a été choisi d'inclure un ionogramme simple dans le panel de marqueurs car lors d'insuffisance hépatique, les animaux présentent fréquemment une hyponatrémie et une hypokaliémie, expliquées par l'activation du système rénine-angiotensine-aldostérone en réponse à l'hypertension portale ainsi que par l'existence de troubles digestifs (diarrhées, vomissements, dysorexie).

IV.3 ANALYSE STATISTIQUE

Les analyses statistiques et les représentations graphiques ont été réalisées à l'aide du logiciel R (R development core team, version 3.0.1). Les résultats étaient considérés comme significatifs pour des p-values inférieures à 0,05.

L'étude statistique a consisté dans un premier temps à déterminer quels étaient les biomarqueurs les plus représentatifs du diagnostic histologique parmi les 17 marqueurs étudiés, en choisissant comme référence histologique la méthode morphométrique, ayant pour avantage d'être quantitative contrairement aux scores de référence qui sont seulement semi-quantitatifs.

Ainsi, il convenait d'étudier dans un premier temps chaque marqueur individuellement afin de déterminer la corrélation entre les valeurs mesurées pour chaque biomarqueur et les résultats histologiques. Cela a été réalisé à l'aide des méthodes de corrélation bivariées de Pearson et de Spearman, qui définissent des rangs afin de déterminer un coefficient de corrélation pour des variables de distribution asymétrique. Cette première analyse individuelle permet de définir quels marqueurs sont les plus précis.

Une analyse multivariée apparaît nécessaire pour déterminer quelle combinaison de biomarqueurs permettra de constituer un score fiable comparativement aux résultats histologiques. Pour déterminer quels marqueurs il convient d'inclure dans le score, la méthode statistique d'analyse des composantes principales a été appliquée afin de réduire le nombre de variables étudiées en décorrélant les variables, en retirant les marqueurs redondants, et en conservant de ce fait seulement les marqueurs les plus pertinents.

Enfin, un modèle d'élimination par régression logistique binaire par minimisation du critère d'Akaike a été appliqué aux marqueurs sélectionnés à l'issue de l'analyse des composantes principales. Il consiste à retirer une à une les variables ayant une p-value non satisfaisante, jusqu'à obtention d'un score présentant une précision diagnostique optimale.

Une fois le score constitué, la représentativité du modèle est évaluée en comparaison à la référence considérée qui est la morphométrie. Cette représentativité est exprimée par les valeurs prédictives positive et négative, ainsi que par l'aire sous la courbe de sensibilité et spécificité (AUROC : area under the operating characteristics), représentative de la précision diagnostique du score. La valeur seuil retenue pour le calcul de l'AUROC est celle de l'index maximal obtenu par la méthode de Youden ($Se+Sp-1$).

- Calcul de la valeur prédictive positive (VPP) : $VPP = VP / (VP + FP)$
- Calcul de la valeur prédictive négative : $VPN = VN / (VN + FN)$
- Calcul de la sensibilité (Se) : $Se = VP / (VP + FN)$
- Calcul de la spécificité (Sp) : $Sp = VN / (VN + FP)$

VP : nombre de vrais positifs, FP : nombre de faux positifs,

VN : nombre de vrais négatifs, FN : nombre de faux négatifs.

L'ensemble de l'étude statistique a été conduite par la société Echosens®. Cette société ayant déposé des brevets pour l'application du score, les calculs et les résultats relatifs à l'étude statistique sont confidentiels et ne sont donc pas présentés en détail dans ce document.

IV.4 RÉSULTATS

✓ Population recrutée

A l'issue du recrutement, 82 individus présentaient une élévation persistante des valeurs des PAI et AIAT. 15 d'entre eux ont été écartés de l'étude en raison de l'existence de d'affections concomitantes, ou d'un diagnostic d'affection hépatique néoplasique à l'examen histologique. 6 chiens ont été exclus de l'étude en raison du manque d'interprétabilité des biopsies hépatiques (taille insuffisante ou fragmentation du prélèvement). Au final, 61 individus répondaient aux critères d'inclusion décrits en I.4.

Sur ces 61 chiens, on dénombre 39 femelles 22 mâles. Les races les plus représentées dans l'étude sont la race Labrador retriever et les races terriers (Scottish terrier, Jack Russell terrier, West Highland white terrier). La moyenne d'âge des animaux au moment du diagnostic est de $9,1 \pm 2,9$ ans.

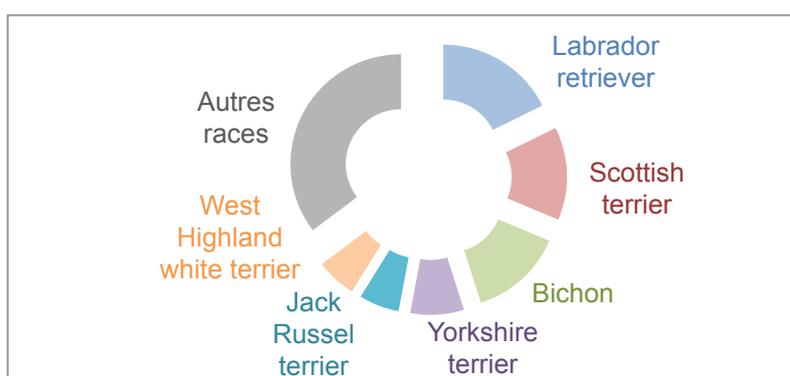


Figure 25 : Répartition des races au sein de la population canine étudiée.

✓ Analyse histologique semi-quantitative : score METAVIR

L'analyse histologique semi-quantitative a permis de déterminer le stade de l'hépatite pour chacun des 61 individus de l'étude. Les résultats présentés ci-dessous montrent une absence de fibrose (stade F0, en vert) chez 19 chiens dont les 6 témoins, soit 31% de l'échantillon, une fibrose légère (stades F1 à F2, en orange) chez 33 chiens, soit 54% de l'échantillon, et une fibrose modérée à sévère (stades F3 à F4, en rouge) chez 9 chiens, soit 15% de l'échantillon.

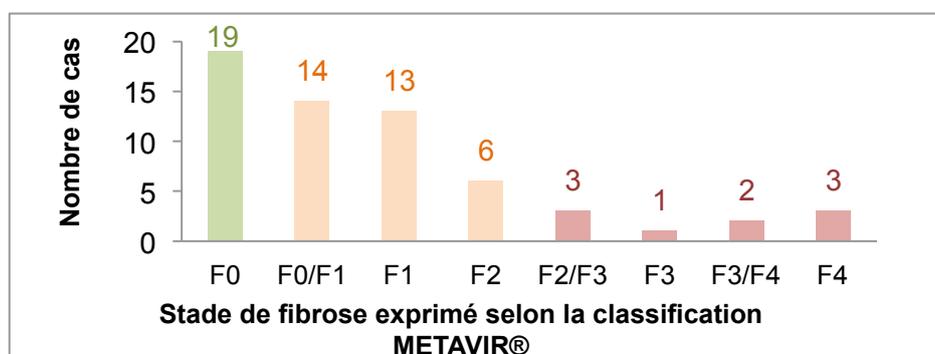


Figure 26 : Résultats de l'analyse histologique semi-quantitative : distribution du stade de fibrose exprimé selon le score METAVIR pour les 61 individus de l'étude.

(F0 = absence de fibrose, F1 = fibrose portale, F2 = fibrose modérément extensive, F3 = fibrose extensive, F4 = cirrhose / fibrose sévère avec évidence de remaniements)

✓ Analyse histologique quantitative : morphométrie

L'analyse morphométrique ne permet pas de distinguer les stades F0 et F1, ainsi que les stades F2 F3 et F4 entre eux. Elle permet toutefois de différencier ces 2 groupes avec une valeur prédictive positive de 87% et une valeur prédictive négative de 100%. La valeur du pourcentage de fibrose définissant le seuil entre ces 2 groupes est confidentielle.

Pour la suite de l'étude, il a donc été considéré 2 groupes : les animaux dont le stade histologique est compris entre F0 et F1, qui constituent un groupe d'individus sains ou présentant un processus de fibrose à un stade précoce, et les animaux dont le stade est supérieur à F2, qui constituent un groupe d'animaux atteints de fibrose hépatique avancée. Suivant cette classification binaire, 24,5% des 61 cas présentaient une fibrose hépatique avancée, tandis que les 75,5% restants étaient considérés comme sains.

✓ Analyses biochimiques sanguines

Les résultats de l'étude individuelle de chaque biomarqueur et des corrélations statistiques binaires effectuées entre les biomarqueurs et la densité de fibrose obtenue par analyse morphométrique sont présentés ci-après. Pour chacun des marqueurs, la performance diagnostique est représentée par sa spécificité, sa sensibilité, et l'aire sous la courbe (AUROC). Les valeurs seuil sont choisies comme étant l'index maximal selon la méthode de Max-Youden.

Tableau XV : Résultats de l'étude des biomarqueurs sanguins mesurés chez les 61 chiens inclus dans l'étude : sensibilité et spécificité par rapport aux mesures morphométriques. (Ac bil AJ = acides biliaires à jeun, AUC = area under curve ou AUROC = aire sous la courbe de fonction d'efficacité du récepteur présentant la précision diagnostique pour la fibrose comparativement aux résultats obtenus par morphométrie, Se = sensibilité, Sp = spécificité, la référence étant l'analyse morphométrique, NC= non calculé)

	AIAT	AsAT	PAI	Bilurine	Ac bil. AJ	Urée	GGT	GLDH	PT	Albumine	Glucose	LDH	Cholestérol	Triglycérides
AUC	0,53	0,57	0,74	0,57	0,52	0,66	0,58	0,55	0,58	0,48	0,61	0,62	0,56	0,53
Se (%)	100	46	77	77	39	54	54	54	100	15	54	69	46	83
Sp (%)	17	80	65	45	85	78	77	75	23	94	73	48	85	39

Chacun des marqueurs a permis de distinguer le groupe témoin des individus atteints. Toutefois, individuellement, les marqueurs étudiés ont une valeur prédictive insatisfaisante. En particulier, nous noterons que l'albumine est le marqueur présentant la plus mauvaise performance diagnostique, tandis que l'obtention de la meilleure performance individuelle est permise par la mesure de l'activité de la phosphatase alcaline.

La corrélation entre chacun des marqueurs biochimiques mesurés et les résultats obtenus par l'analyse morphométrique est par ailleurs représentée graphiquement par des « bean plots » reportés dans l'annexe 3.

✓ Constitution du score de fibrose

À l'issue de l'étude individuelle des biomarqueurs, la méthode d'analyse des composantes principales a été appliquée afin de réduire le nombre de variables considérées. Les résultats sont présentés dans le graphique ci-dessous.

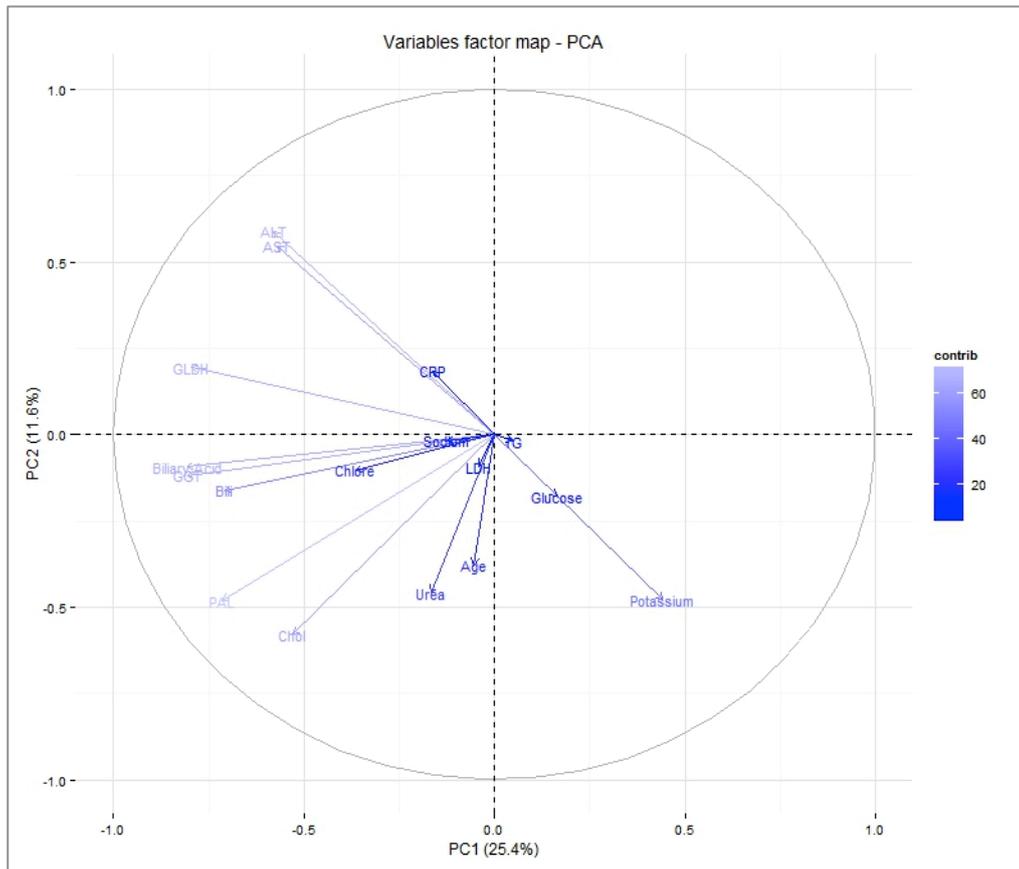


Figure 27 : Résultats de l'étude des biomarqueurs sanguins mesurés chez les 61 chiens inclus dans l'étude : sensibilité et spécificité par rapport aux mesures morphométriques.

La représentation graphique permet de visualiser les marqueurs redondants, qui sont des points voisins sur le graphe. Les résultats de l'étude individuelle permettent ensuite de sélectionner le marqueur le plus pertinent parmi ces marqueurs redondants. Ainsi, L'AIAT et l'AsAT sont voisins, ce qui signifie qu'ils ont la même valeur explicative. L'AUC de l'AsAT étant la plus élevée, l'AIAT est retirée du score. De la même façon, entre les acides biliaires et les GGT qui sont voisins, le paramètre retenu est la GGT qui présente une AUC supérieure à celle des acides biliaires. A l'issue de l'analyse des composantes principales l'AIAT et les acides biliaires ont donc été écartés du score.

Suite à cette première sélection, un modèle d'élimination par régression logistique binaire par minimisation du critère d'Akaike est appliqué. Il consiste à éliminer un à un les marqueurs dont la p-value est supérieure à 0,05, jusqu'à obtention du score le mieux corrélé aux résultats de l'analyse histologique.

Enfin, les paramètres sélectionnés pour le calcul du score de fibrose sont au nombre de 6 : les phosphatases alcalines, la bilirubine totale, la gamma-glutamyltransférase, le glucose, les triglycérides, et le potassium.

✓ Evaluation du score de fibrose

La dernière étape de l'analyse statistique consiste à tester le modèle.

- *Intérêt de la constitution d'un score de fibrose dans l'optimisation de la précision diagnostique*

En prenant comme référence les résultats de l'analyse morphométrique, le score de fibrose permet d'obtenir un diagnostic correct avec une précision de 93,3%. Ainsi, ce score permet de détecter correctement 91% des chiens du groupe 2 (présence d'une fibrose modérée ou avancée) et 94% des chiens du groupe 1 (fibrose absente ou légère). La sensibilité du score est de 76,9%, et sa spécificité de 97,9%. L'AUROC obtenue par la méthode de corrélation de Max-Youden est de $0,93 \pm 0,043$.

La combinaison des marqueurs en un score permet d'augmenter considérablement la puissance diagnostique comparativement à l'analyse des marqueurs seuls : les AUROCs des biomarqueurs seuls sont très inférieures à celle du score de fibrose, ce qui est illustré dans le graphique ci-dessous (fig. 29) représentant simultanément les courbes ROC du score de fibrose et de deux marqueurs (AIAT et PAI) seuls.

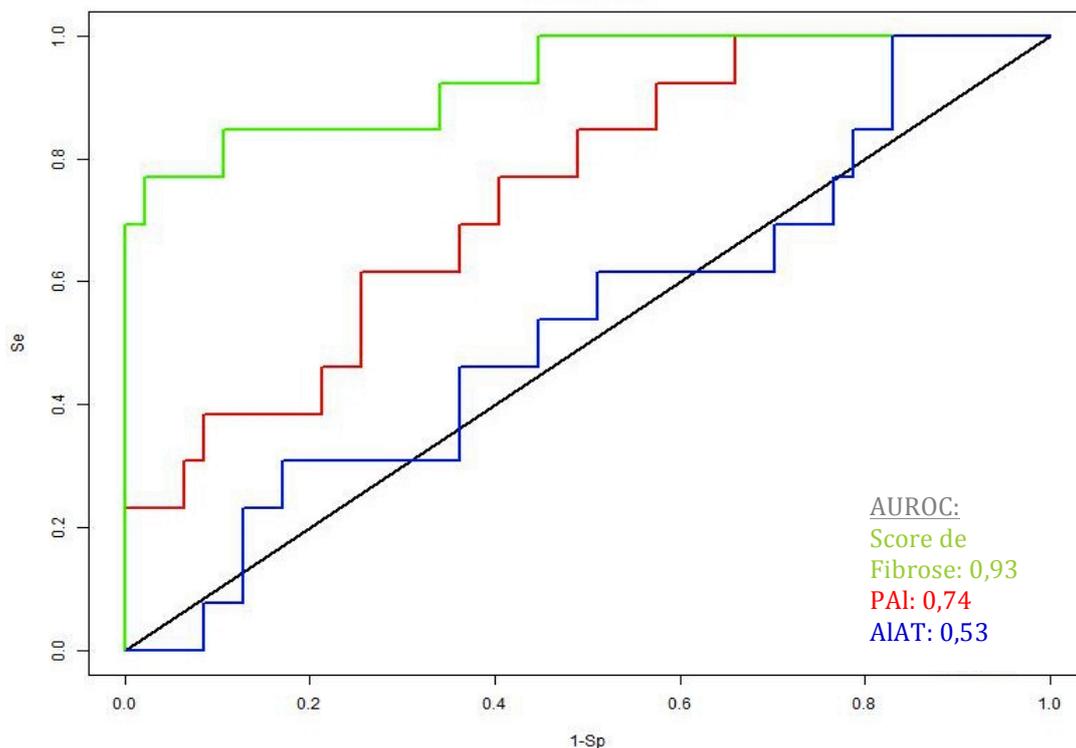


Figure 28 : courbe de fonction d'efficacité du récepteur (ROC) représentant la précision diagnostique pour la fibrose des marqueurs AIAT (courbe bleue) et PAI (courbe rouge) seuls, et du score de fibrose élaboré (courbe verte).

La précision diagnostique obtenue en considérant le score de fibrose élaboré précédemment est supérieure à celle obtenue en considérant les marqueurs de façon individuelle. La combinaison de plusieurs marqueurs en un score présente donc un réel intérêt dans le cadre du diagnostic de la fibrose hépatique, bien que ce score nécessite une validation sur une plus grande population.

- *Corrélation entre les résultats du score de fibrose et les résultats histologiques*

La corrélation entre les résultats obtenus par analyse histologique et le score de fibrose qui a été élaboré est satisfaisante (p -value $<0,01$). Le graphique ci-dessous représente le score de fibrose constitué par les biomarqueurs (axe des abscisses) en fonction de la densité de fibrose obtenue par analyse morphométrique (axe des ordonnées). Ce dernier permet bien la distinction des deux groupes définis précédemment, le groupe 0 correspondant aux stades METAVIR F0 F1 et le groupe 1 aux stades METAVIR F2 F3 et F4.

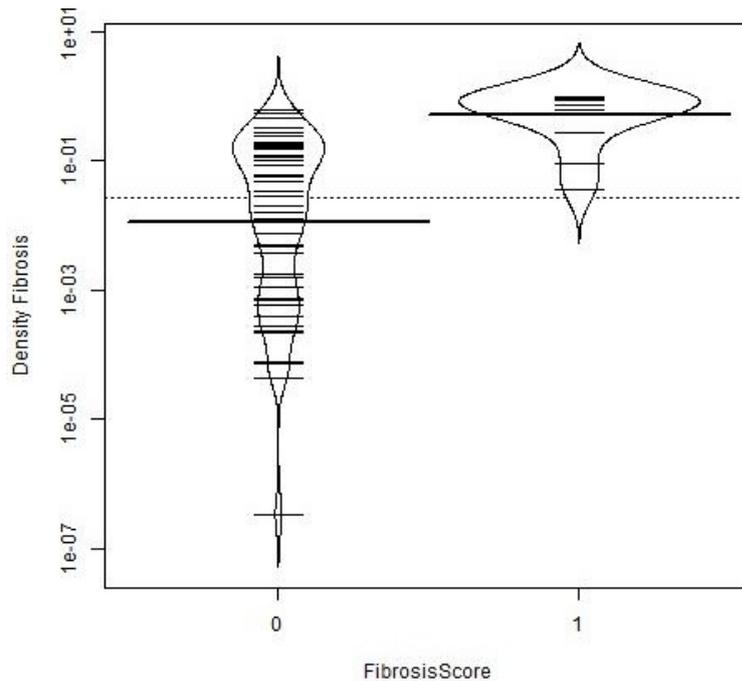


Figure 29 : Représentation graphique sous forme de « bean plot » des distributions de la densité de fibrose de chaque échantillon en fonction du score de fibrose.

La corrélation entre les résultats obtenus par analyse histologique et le score de fibrose élaboré permet bien la distinction d'un groupe présentant une fibrose absente à légère et d'un groupe présentant une fibrose modérée à avancée.

IV.5 DISCUSSION

✓ Objectifs, résultats obtenus, et applicabilité

L'objectif de la création d'un score de fibrose étant de dépister en routine des chiens atteints de fibrose hépatique et d'effectuer un suivi des lésions pour un coût raisonnable, les paramètres sélectionnés pour entrer dans la composition du score devaient donc être facilement dosables dans le cadre de la pratique clinique quotidienne, et de manière reproductible.

L'étude statistique conduite sur les résultats biochimiques de la population d'étude a permis de déterminer la combinaison de paramètres pour laquelle la précision diagnostique était optimale comparativement aux résultats de l'examen histologique. Après avoir été comparée aux résultats de l'analyse histologique semi-quantitative exprimés selon le score METAVIR, l'analyse morphométrique quantitative a été choisie comme méthode d'évaluation histologique de référence, car elle permet l'affranchissement du biais de l'opérateur et ainsi l'obtention d'un résultat objectif.

La combinaison de plusieurs paramètres en un score permet une meilleure précision diagnostique que l'étude individuelle de chaque marqueur. Ainsi, en comparant le score de fibrose composé de 6 paramètres (phosphatases alcalines, gamma-glutamyl transférase, bilirubine totale, glucose, triglycérides, potassium) à l'analyse morphométrique, l'AUROC obtenue est de 0,93, tandis qu'elle n'est que de 0,53 si l'on considère le marqueur AIAT seul par exemple. De même, la constitution d'un score d'activité nécro-inflammatoire composé de 3 paramètres permet l'obtention d'une AUROC de 0,81, tandis que pour le paramètre AIAT seul l'AUROC est de 0,75. Par ailleurs, la combinaison de plusieurs biomarqueurs au sein d'un même score permet de limiter la variabilité inhérente au dosage de chaque biomarqueur et ainsi d'augmenter la reproductibilité du test.

Le score qui a été constitué est donc intéressant dans le cadre d'un dépistage puisqu'il permet d'identifier 94% des animaux ne présentant pas de lésions de fibrose ou présentant des lésions à un stade précoce à l'examen histologique (F0 et F1 selon le score METAVIR), et 91% des animaux présentant un stade de fibrose avancé (F2 à F4 selon le score METAVIR).

Ce test de dépistage de la présence de fibrose hépatique est commercialisé par la société Echosens sous le nom de FibroVet™screening. Le résultat est exprimé selon 3 catégories, chacune associée à une couleur pour une lisibilité rapide du résultat.



ANIMAL	PRESCRIPTEUR
Chips, Male, 12 ans 0123456789	Laboratory Labs Add 1
Propriétaire : Henry Public	75013 Paris France 01 02 03 04 05, lab@labo.com

PARAMÈTRES SANGUINS

Date de prélèvement : février 02 2015

ALAT 287 UI/L	PAL 356 UI/L	Bilirubine 4.1 mol/L
GGT 29 UI/L	Glucose 7.6 mmol/L	Potassium 3.5 mmol/L
Triglycérides 0.56 mmol/L		

RÉSULTATS



INTERPRÉTATION

FibroVet Screening combine les résultats de marqueurs cliniques et biologiques afin de dépister la fibrose et l'inflammation hépatique. L'inflammation peut provoquer une cicatrice du tissu hépatique : une fibrose. La gravité de la maladie dépend du développement de cette fibrose et de son évolution vers une cirrhose. FibroVet Screening permet un dépistage précoce, non invasif et sans douleur des maladies hépatiques du chien.

 Le chien ne présente aucun signe de fibrose ni d'inflammation.

 Une fibrose modérée à sévère est suspectée chez le chien : des examens complémentaires tels qu'une biopsie sont à envisager à l'appréciation du vétérinaire.

PRÉCAUTIONS D'UTILISATION

Il est déconseillé d'utiliser FibroVet Screening chez les chiens de moins de 2 ans ainsi que ceux atteints d'affections non liées au foie, pouvant modifier l'activité des enzymes hépatiques (hépatocarcinome, Cushing...). Certains traitements comme les glucocorticoïdes ou le phénobarbital sont susceptibles de perturber les paramètres inclus dans le score. Les analyses biologiques réalisées pour le calcul de FibroVet Screening doivent être effectuées selon les recommandations techniques décrites sur www.fibrovet.com.

Figure 30 : Modèle d'une feuille de résultats d'un test FibroVet™ screening (disponible sur le site web <http://www.fibrovet.com/fr>)

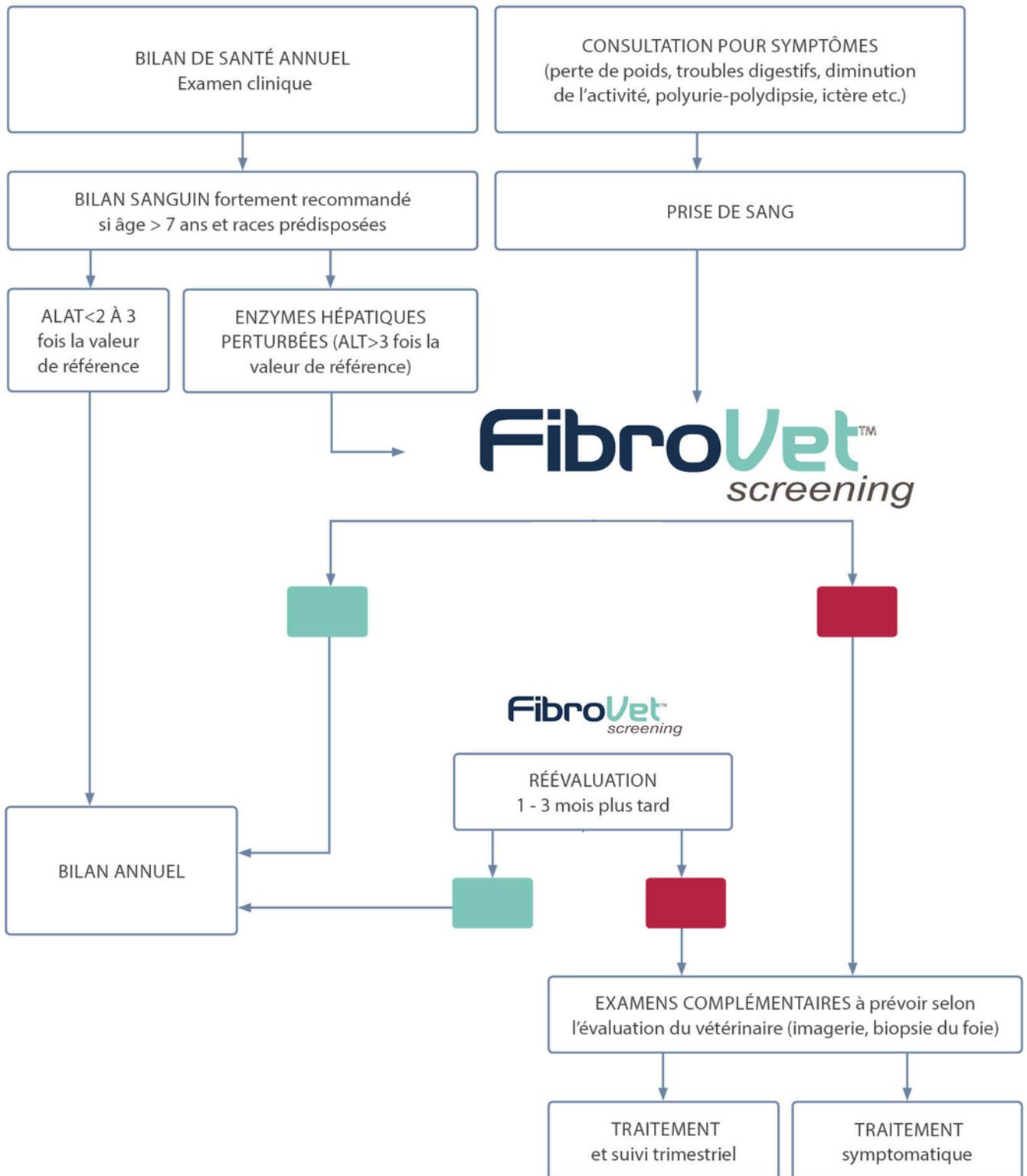


Figure 31 : Diagramme de dépistage de la présence de fibrose hépatique utilisant le test FibroVet™ screening (disponible sur le site web <http://www.fibrovet.com/fr>)

✓ Limites

Recrutement des candidats et étude statistique

La principale limite de cette étude réside dans la population d'étude, de taille insuffisante et de composition hétérogène. Pour comparaison, les études conduites en médecine humaine intéressent des populations de 200 à 1000 individus. La taille réduite de la population recrutée (61 cas) constitue ainsi une limite à l'interprétation des résultats, amplifiée par la répartition hétérogène de la sévérité des cas au sein de la population : seuls 25% des cas se situent dans la catégorie des stades de fibrose avancés.

L'interprétation des résultats a donc été limitée par le biais de recrutement, à l'origine de l'impossibilité de distinguer les divers stades de fibrose selon la classification METAVIR, réduisant l'étude de la fibrose à une étude binaire (présence ou absence de fibrose), et ne permettant pas une distinction correcte des stades avancés entre eux. Par conséquent, le résultat obtenu n'est pas adapté au cadre du suivi mais il reste satisfaisant pour le dépistage de la fibrose hépatique.

Par ailleurs, dans cette étude certaines races sont présentes en proportions bien supérieures aux autres. Or, nous avons vu que la présentation des hépatites chroniques pouvait être spécifique de certaines races. Il conviendrait donc idéalement, pour s'affranchir de cet éventuel biais, d'envisager d'étudier séparément chaque race.

Matériel et méthodes

Par ailleurs, comme il l'a été détaillé dans l'étude descriptive (voir partie I.3.6.), la méthode de référence pour le diagnostic, qui est l'analyse histologique de prélèvements de foie, présente l'inconvénient du biais d'échantillonnage. En effet, bien que plusieurs prélèvements soient réalisés à chaque fois, l'histologie est représentative du fragment étudié et non de l'intégralité du parenchyme hépatique. De plus, les biopsies n'étant pas toutes de taille identique ni réalisées par le même opérateur, l'hétérogénéité des prélèvements constitue de fait un biais pour l'étude.

Constitution du score

Les paramètres choisis pour entrer la constitution du score ne sont pas spécifiques de la fibrogenèse ou de la fibrolyse : ce sont des marqueurs de l'intégrité hépatocytaire ou de la fonction hépatique. Ainsi, l'inclusion de marqueurs de type 1 pourrait augmenter la précision du score et ainsi de mieux distinguer les stades afin d'affiner le diagnostic d'une part et de permettre un suivi suffisamment précis de la pathologie une fois le diagnostic histologique de départ obtenu d'autre part. Enfin, bien que les critères d'inclusion aient limité la variabilité des résultats en excluant les pathologies intercurrentes, des comorbidités non détectées peuvent toujours en affecter les valeurs. C'est le cas principalement des affections hépatobiliaires concomitantes qui font augmenter les valeurs individuelles de certains marqueurs de façon marquée, réduisant ainsi la spécificité du test.

Conclusion

La fibrose hépatique est une séquelle non spécifique de lésions hépatocellulaires caractérisée par une augmentation de la quantité de la matrice extracellulaire hépatique et une altération de sa qualité. Son installation est médiée par de très nombreuses molécules, et engendre des modifications histologiques allant jusqu'à des remaniements architecturaux majeurs affectant la fonctionnalité des hépatocytes, et dont la réversibilité reste à définir.

L'altération de la fonction hépatique et ses répercussions systémiques sont tardives. De plus, du fait de la grande diversité des fonctions du foie, l'expression clinique de la perte de fonction hépatique est extrêmement protéiforme, rendant l'étude des manifestations cliniques insuffisante dans le cadre du diagnostic des hépatites chroniques. De même, les outils paracliniques de routine n'apportent pas une précision diagnostique satisfaisante. Ainsi, les examens d'imagerie usuels (radiographique, échographique) sont peu interprétables du fait de leurs faibles spécificités et sensibilités. Les répercussions fonctionnelles ne sont pas non plus toutes spécifiques, surtout si l'on considère les marqueurs biochimiques de la fonction hépatique de façon individuelle. Toutefois, certains marqueurs sériques sont spécifiques d'une souffrance cellulaire, ou de processus de fibrose, et semblent présenter un intérêt réel dans l'établissement du diagnostic.

Actuellement, la méthode de référence pour l'évaluation de la fibrose hépatique est l'histologie, sur des biopsies réalisées par abord chirurgical ou échoguidé. L'interprétation des biopsies est exprimée selon des scores semi-quantitatifs. Cette méthode présente des limites importantes car elle est invasive, et délicate à mettre en œuvre chez des animaux présentant une intolérance aux anesthésiques ou des troubles de la coagulation occasionnés par l'insuffisance hépatique. Il convient donc de déterminer le rapport bénéfice-risque d'un tel prélèvement. Si le bénéfice est grand dans le cadre du diagnostic de certitude initial et dans la détermination précise du stade lésionnel, on comprendra aisément que cette méthode n'est pas adaptée à la réalisation d'un suivi qui demanderait de répéter ces prélèvements invasifs, ou bien dans le cadre d'un dépistage où l'on ne souhaite pas réaliser un prélèvement invasif chez un animal sain. Un score non invasif est donc nécessaire au dépistage précoce des hépatopathies chroniques et à leur suivi, ce qui a motivé la réalisation de l'étude présentée dans ce document.

L'objectif de l'étude était de mettre en place un score non invasif facilement applicable en routine et étroitement corrélé aux scores histologiques de référence, à partir d'une combinaison de biomarqueurs. 61 chiens présentant une élévation persistante de marqueurs de la fonction hépatique (phosphatases alcalines et alanine aminotransférase) et des lésions diffuses à l'examen échographique ont été recrutés. 20 paramètres ont été dosés et une étude statistique a comparé plusieurs combinaisons de marqueurs aux résultats histologiques quantitatifs obtenus par morphométrie. Finalement, les paramètres sélectionnés pour le calcul du score de fibrose sont au nombre de 6 : les phosphatases alcalines, la bilirubine totale, la gamma-glutamyltransférase, le glucose, les triglycérides, et le potassium.

La corrélation entre le score de fibrose sélectionné et les résultats de l'analyse par morphométrie s'est révélée satisfaisante, l'AUROC obtenue étant de 0,93. Toutefois, le nombre insuffisant de cas, surtout dans les stades avancés, a réduit considérablement l'interprétation puisque les stades de fibrose définis selon le score METAVIR n'étaient pas distinguables. Ainsi, seuls deux groupes ont été considérés : présence de fibrose et absence de fibrose. Les résultats obtenus permettent cependant de dépister la présence de fibrose hépatique avec une sensibilité de 76,9% et une spécificité de 97,9%, et ce score est actuellement commercialisé par la société Echosens® pour un dépistage de routine.

Cette étude préalable est donc prometteuse mais il serait intéressant de la mener sur une plus grande population afin d'obtenir des résultats plus significatifs. Par ailleurs, une étude par race serait intéressante afin de déterminer si la race constitue un biais, et ainsi s'il convient de définir un score pour chaque race ou si le même score convient à toutes les races.

Une autre méthode d'évaluation non invasive est l'imagerie par élastographie impulsionnelle, qui cartographie les différentes densités du foie. Cet outil est très prometteur car il permettrait un diagnostic non invasif, précis, et rapide. Toutefois, les protocoles d'utilisation sont encore à l'étude car les différences de conformation des thorax des chiens ainsi que la différence de densité hépatique entre les hépatopathies de surcharge et les processus de fibrose constituent un obstacle à la reproductibilité des résultats. Il semblerait intéressant de combiner l'étude des paramètres biochimiques aux résultats donnés par cet examen pour obtenir des scores non invasifs de plus grande précision.

Thèse de Mlle TOUZET Chloé

**Le Professeur responsable
VetAgro Sup campus vétérinaire**

Professeur Jean-Luc Cadoré
Département des Animaux de Compagnie
Médecine Interne
Dipl. E.C.V.I.M. (C.A.)

**Le Directeur général
VetAgro Sup**

Le président de la thèse

Professeur Fabien ZOULIM
Service Hépatologie et Gastroentérologie
HOPITAL DE LA CROIX-ROUSSE - Bâtiment R
69317 LYON CEDEX 04
N° Finess 693 784 152
Groupement Hospitalier Nord

Par Délégation
Dr. L. FREYBURGER
Directeur de l'Enseignement
et de la Vie Etudiante
VetAgro Sup Campus Vétérinaire

Vu et permis d'imprimer

Lyon, le **29 SEP. 2016**

Pour, Le Président de l'université, le **Président du CCEN**
Professeur **P. COCHAT**

Annexe 1 : **Symptômatologie des hépatites chroniques**

I) SIGNES PRÉCOCES NON SPÉCIFIQUES

✓ Anorexie

D'une part, les facteurs pro-inflammatoires libérés au cours de la phase nécro-inflammatoire de l'hépatite entraînent de l'anorexie et des aversions alimentaires. Les principaux facteurs concernés sont les prostaglandines (PGE2) et les cytokines : interleukines (IL-1 β), interférons, tumor necrosis factor (TNF). Leur administration exogène est suivie de la diminution de la fréquence des repas et de la quantité ingérée (IL-1 β). Plusieurs modes d'action sont décrits : ces médiateurs se fixent au niveau de récepteurs des nerfs sensitifs périphériques (vague, trijumeaux, spinaux) qu'ils dépolarisent, ils agissent aussi directement au niveau du système nerveux central, notamment au niveau tractus solitaire situé à l'étage bulbaire du tronc cérébral et au niveau des noyaux paraventriculaire et arqué de l'hypothalamus, où ils modifient l'activité neuronale (GAUTRON, 2010).

D'autre part, l'altération de la fonction hépatique provoque l'entrée dans un état catabolique, à l'origine de la production de médiateurs anorexigènes.

✓ Vomissements

Les vomissements résultent le plus souvent de l'inflammation digestive occasionnée par l'hyperammoniémie et les modifications de la flore digestive. Moins fréquemment, ils sont dus à la stimulation des chémorécepteurs de la zone du vomissement mésencéphalique (trigger zone) lors d'encéphalose hépatique. (WEBSTER, 2010)

✓ Amaigrissement, faiblesse musculaire, et abattement

L'amaigrissement et la faiblesse musculaire sont dus à l'état catabolique et l'anorexie. L'abattement est consécutif aux troubles métaboliques et à l'amaigrissement.

II) SIGNES TARDIFS PLUS SPÉCIFIQUES

✓ Ictère

Cliniquement, l'ictère correspond à une coloration jaune des muqueuses due à une augmentation de la concentration sérique de bilirubine, détectée cliniquement lorsque les concentrations sont supérieures à 20mg/L. Ce symptôme n'est pas spécifique des hépatites, il convient donc d'établir le diagnostic différentiel avec l'ensemble des causes d'hémolyse extravasculaire. La corrélation entre la présence d'ictère et d'hépatite chronique est mauvaise, ce signe est plus fréquemment rencontré dans les affections telles que les hépatites aiguës, les lipidoses, les tumeurs diffuses, les affections des voies biliaires.

✓ Syndrome fébrile

Plusieurs mécanismes expliquent le syndrome fébrile qui accompagne 14,7% des hépatites chroniques : l'inflammation importante qui se met en place lors de la phase active de l'hépatite peut devenir systémique, et la contamination par des bactéries et toxines en provenance de l'intestin non filtrées ou détoxifiées par le foie qui est elle aussi à l'origine d'une inflammation pouvant devenir systémique. Le syndrome fébrile, caractérisé par une hyperthermie, un abattement, et une anorexie, n'est pas spécifique.

✓ Ascite

L'ascite est présente dans seulement 5,3% des cas. Elle est secondaire soit à une hypoalbuminémie seule (transsudat pur) due à une réduction majeure du nombre d'hépatocytes fonctionnels, soit à la conjonction d'une hypoalbuminémie et d'une hypertension portale (transsudat pur ou modifié). Le transsudat issu d'une production excessive de lymphe par le foie et l'espace splanchnique est incolore, transparent, non hémorragique. En cas d'ictère, le liquide d'ascite peut être jaune (ROTHUIZEN, 2009 a).

D'ordinaire, une hypoalbuminémie modérée, dont les valeurs restent au-dessus de 15-20g/L n'entraîne pas d'ascite (HERNANDEZ, 2010). La présence d'ascite à de telles concentrations d'albumine implique nécessairement l'existence concomitante d'une hypertension portale, due à la compression de la veine porte par des dépôts de collagène et d'infiltrats de cellules inflammatoires, et due aux nombreux remaniements vasculaires. La persistance d'une hypertension portale implique des changements hémodynamiques importants : séquestration du sang splanchnique, hypotension artérielle, activation des récepteurs volémiques avec mise en jeu du système rénine-angiotensine, à l'origine d'une rétention sodée et de l'apparition d'ascite (ROTHUIZEN, 2009 a). A la faveur de l'hypertension portale, de nouveaux shunts porto-systémiques intra et extra-hépatiques se forment, diminuant encore l'élimination hépatique des métabolites endogènes.

La présence d'ascite est fréquente lors de fibrose hépatique et constituerait un marqueur assez spécifique d'une atteinte parenchymateuse du fait de son absence lors de shunt porto-systémique congénital seul. Toutefois, la spécificité du dosage de l'albumine est plutôt mauvaise car, bien que sa production soit exclusivement hépatique, il peut exister des pertes, d'origine intestinale dans les cas d'entéropathies exsudatives, ou d'origine rénale dans les cas de néphropathies. (TENNANT, 2008)

✓ Troubles urinaires et polyuro-polydipsie

26,4% des animaux malades présentent une polyuropolydipsie. Les mécanismes pathogéniques rapportés sont une altération du gradient corticomédullaire rénal occasionné par l'hypourémie, une augmentation de la cortisolémie due à une diminution de sa dégradation hépatique, une altération des osmorécepteurs portaux, et du fonctionnement des centres de la soif secondairement à l'encéphalose hépatique. (WEBSTER, 2010)

Des cristaux ou calculs de biurates d'ammonium occasionnant de la dysurie, de la strangurie, et de l'hématurie sont parfois retrouvés en association avec des cas de fibrose hépatique avancée, en raison de l'incapacité du foie à transformer l'ammoniac en urée et les urates en allantoïne. L'ammoniac et l'acide urique s'agrègent pour former des cristaux ou des calculs de biurates d'ammonium. Toutefois ils sont plus fréquemment rencontrés lors de shunt porto-systémique congénital ou de défaut congénital du métabolisme de l'acide urique (ROTHUIZEN, 2009 a).

✓ Troubles de l'hémostase

Le foie est un organe clé pour l'hémostase secondaire : l'intégralité des facteurs de coagulation (excepté le facteur VIII de Von Willebrand) est synthétisée dans le foie, et l'activation des facteurs II, VII, IX, et X est dépendante de la disponibilité de la vitamine K. Lors de fibrose hépatique, la synthèse hépatique des facteurs de la coagulation (pro- et anti-coagulants) est altérée, et il y a en parallèle un défaut d'absorption des lipides et donc de la vitamine K. Bien que des saignements spontanés ne soient que très rarement rencontrés, les troubles de l'hémostase peuvent se révéler lors de la réalisation de biopsies hépatiques, d'où l'importance de l'exploration préalable de l'hémostase secondaire. Une anémie normocytaire normochrome hyporégénérative à arégénérative peut être observée à la suite de la réalisation de biopsies, ou lors d'ulcérations gastroduodénales. (ROTHUIZEN, 2009 a).

Une insuffisance hépatique affecte aussi l'hémostase primaire : la séquestration splanchnique de sang en réponse à l'hypertension portale est à l'origine d'une thrombopénie (ROTHUIZEN, 2009 a). Par ailleurs, la présence d'une hyperammoniémie inhibe l'agrégation plaquettaire (WILLIS, 1989).

✓ Signes dermatologiques

L'augmentation du catabolisme hépatique aboutit à de nombreuses perturbations métaboliques. La privation nutritionnelle occasionne une dermatite nécrolytique superficielle, aussi appelée érythème nécrolytique migrant, nécrose épidermique métabolique, ou syndrome hépatocutané. Bien que sa pathogénie ne soit pas élucidée pour le moment, l'érythème nécrolytique migrant est fréquemment rencontré lors de cirrhose hépatique macronodulaire consécutive à l'évolution d'une hépatopathie vacuolaire sévère, et les malades présentent des taux d'acides aminés plasmatiques faibles (GROSS, 1993).

Le syndrome hépatocutané est caractérisé par des lésions croûteuses et de l'hyperkératose au niveau des points d'appui, des coussinets, des jonctions cutanéomuqueuses (pourtour de l'anus, bouche, yeux). Ces lésions alopeciques et érythémateuses sont accompagnées d'une excoriation à l'origine de d'érosions et d'ulcérations ; les coussinets peuvent se fissurer, ce qui occasionne du prurit et de la douleur, les griffes peuvent tomber. Le développement d'une folliculite secondaire bactérienne ou fongique est fréquent. Lors d'évolution chronique, l'hyperpigmentation et la lichénification sont courantes.

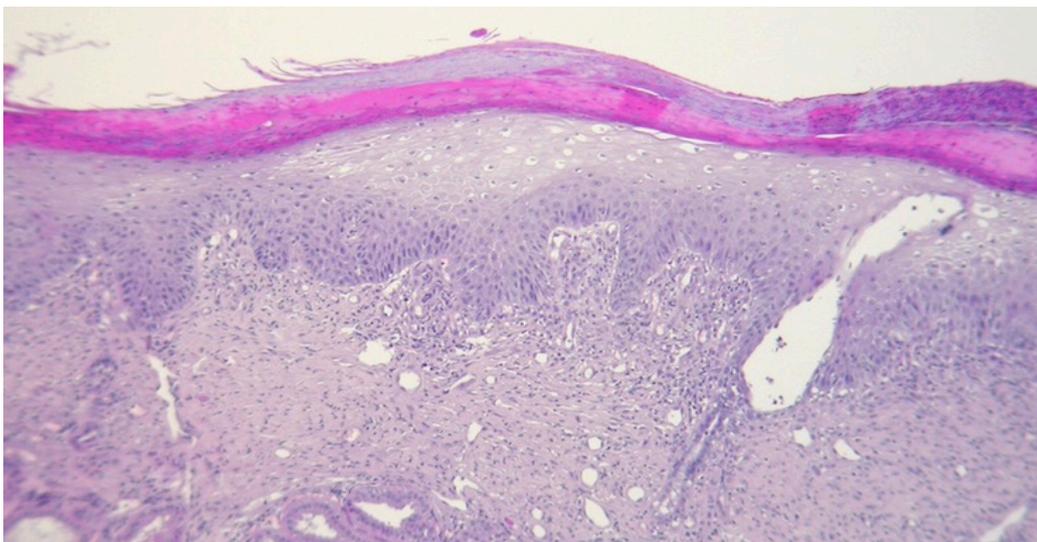


Syndrome hépatocutané chez un chien de race West Highland White Terrier et aspect du foie lors de l'examen nécropsique (Service de dermatologie de VetAgro Sup)



Lésions croûteuses et ulcératives chez un chien de race West Highland White Terrier présentant syndrome hépatocutané (Service de dermatologie de VetAgro Sup)

Le diagnostic repose sur la réalisation de plusieurs biopsies cutanées effectuées au niveau des zones croûteuses et érythémateuses non ulcérées. L'examen histologique met en évidence un épiderme fissuré, en « drapeau français » : une parakératose superficielle laminaire associée à une infiltration neutrophilique constitue la partie « rouge » éosinophile, une vacuolisation des kératinocytes et un œdème intercellulaire dans la couche granuleuse malpighienne constituent une zone plus claire « blanche », enfin, une hyperplasie de la couche basale profonde constitue la zone « bleue » basophile en raison de son rapport nucléoplasmique faible. Au niveau du derme, on note une infiltration majoritairement neutrophilique, périvasculaire à interstitielle. Il convient à l'issue de cet examen complémentaire de réaliser le diagnostic différentiel avec une dermatose d'origine alimentaire qui présente un schéma lésionnel similaire (GROSS, 2005).



Aspect histologique de lésions biopsiées chez un chien présentant un syndrome hépatocutané (Service de dermatologie de VetAgro Sup)

Lors de diathèse hémorragique, des suffusions cutanées liées aux troubles de la coagulation peuvent être observées (FAVIER, 2009).

✓ Signes nerveux

Les hépatites chroniques peuvent entraîner l'apparition d'une encéphalopathie, secondaire à la modification du métabolisme cérébral par les désordres biochimiques qu'occasionnent le dysfonctionnement hépatique (insuffisance de synthèse hépatique qui se traduit par une diminution des concentrations sériques en albumine, glucose, cholestérol et urée et par une augmentation de l'ammoniémie), ainsi qu'à la présence dans la circulation générale de toxines en provenance de l'intestin non filtrées ou non détoxifiées par le foie (DENOVO, 2010). Ce signe n'est pas spécifique des hépatites chroniques : on rencontre aussi des encéphalopathies lors de shunt porto-systémique par exemple.

Deux formes d'encéphalopathies hépatiques sont décrites. La première est une forme aiguë fulgurante, rarement rencontrée dans le cas des hépatites chroniques, facile à diagnostiquer en raison du caractère intense de ses manifestations (animal comateux, dont les enzymes hépatiques plasmatiques sont extrêmement augmentées, présentant un ictère marqué et une coagulopathie sévère). Elle est le résultat d'une défaillance brutale de la fonction hépatique. Le pronostic est très sombre dans de tels cas, l'animal meurt en quelques jours (ROTHUIZEN, 2009 a). La seconde forme d'encéphalopathie est chronique, elle est parfois appelée encéphalopathie portosystémique. Cette forme, beaucoup plus fréquente que la précédente, est secondaire à une défaillance parenchymateuse associée à des anomalies vasculaires occasionnant une hypertension portale.

L'expression des encéphalopathies hépatiques consiste en des signes nerveux centraux diffus. Ainsi, on peut rencontrer des troubles du comportement, une altération de l'état de conscience (sommolence), une démarche compulsive, des comportements de type marche en cercle ou pousser au mur, une amaurose transitoire, du ptyalisme, plus rarement des crises convulsives. L'état de l'animal peut se dégrader jusqu'à devenir stuporeux ou comateux. Rothuizen classe les signes d'encéphalopathie hépatique selon 4 stades, regroupés dans le tableau ci-dessous. Pour les premiers stades, et dans le cas d'un traitement de la cause de l'encéphalopathie, les signes neurologiques sont réversibles.

Stade	Signes cliniques	Possibles signes associés
Stade 1	Apathie, regard fixe, état de conscience altéré, perte de la conscience de ce qui entoure l'animal	Polyuro-polydipsie, dysurie, vomissements
Stade 2	Ataxie, marche en cercle, poussée au mur, amaurose, ptyalisme, somnolence	
Stade 3	Stupeur, ptyalisme marqué	
Stade 4	Coma, aucune réponse aux stimuli	

Classement des encéphalopathies hépatiques en 4 stades définis à partir des signes cliniques observés (ROTHUIZEN, 2009 a)

Le seul moyen d'objectiver une encéphalopathie hépatique consiste à mesurer l'ammoniémie (ROTHUIZEN, 1982). Le sang prélevé est placé dans un tube EDTA stocké dans de la glace fondante, et l'échantillon doit être analysé dans un délai de 30 minutes. Des augmentations modérées peuvent toutefois être sous-diagnostiquées lors d'analyses de sang veineux, car l'ammoniac se fixe à la glutamine dans les tissus, ce qui fait que les concentrations y sont moins élevées que dans le sang artériel. La réalisation d'un test de tolérance à l'ammoniac sur sang veineux permet d'écartier le doute lorsque les taux ne dépassent pas 150 mmol/L (ROTHUIZEN, 2009 a).

✓ Signes digestifs

L'inflammation de contact du tube digestif avec le foie est à l'origine de diarrhées, rapportées dans 18,6% des cas, et de vomissements, rapportés dans 25,9% des cas. Les vomissements peuvent aussi être causés par une stimulation directe des chémorécepteurs de la trigger zone cérébrale, zone de déclenchement central des vomissements ou bien par la présence d'ulcères gastro-intestinaux consécutifs à l'état inflammatoire et à l'anorexie (WEBSTER, 2010). La pathogénie des ulcères gastro-intestinaux est variée. Ils peuvent être causés par une sécrétion excessive d'acides par l'estomac consécutivement à la diminution du métabolisme hépatique de la gastrine, ainsi qu'à une perte d'intégrité de la paroi de l'estomac en raison d'une mauvaise irrigation gastrique dans les cas d'hypertension portale.

D'autres signes digestifs de type méléna et hématomèse peuvent se manifester. Cette diathèse hémorragique s'explique par un défaut de synthèse des facteurs de coagulation et plus généralement par et/ou par la présence d'ulcères gastro-intestinaux.

Prévalences des signes cliniques associés aux hépatites chroniques obtenues grâce aux données de 6 études (FAVIER, 2009 ; WEBB, 2002 ; SOMMER, 2006 ; SHIH, 2007 ; MANDIGERS, 2006 ; GOMEZ SELGAS, 2014)

NC = non connu. Les prévalences entre parenthèses ont été calculées à partir d'une seule étude et sont donc à interpréter avec précaution.

Article/étude	Favier, 2009	Webb et al, 2002	Sommer, 2006	Shih et al, 2007	Mandigers, 2006	Gomez Selgas, 2014	Prévalence
Nombre de cas étudiés	250	10	10	24	259	39	-
Hyperthermie	NC	NC	2	3	NC	NC	14,7 %
Abattement	45	NC	NC	8	NC	19	23,0 %
Anorexie	72	9	10	16	NC	6	33,9 %
Intolérance à l'effort	35	NC	NC	NC	NC	NC	(14,0%)
Vomissements	107,5	9	9	9	7	12	25,9 %
Diarrhée	83	NC	7	9	4	5	18,6 %
Amaigrissement	97	1	5	6	79	4	40,0 %
Polyuropolydipsie	122	0	2	2	21	9	26,4 %
Ascite	NC	1	2	NC	2	12	5,3 %
Ictère	NC	3	5	2	2	10	6,4 %
Encéphalopathie	NC	2	NC	0	3	NC	1,7 %
Syndrome hépatocutané	NC	NC	NC	NC	58	NC	(22,4%)

Annexe 2 : **Traitement symptomatique des complications des hépatites chroniques**

I) TRAITEMENT DE L'ENCÉPHALOSE HÉPATIQUE

Les signes nerveux étant principalement provoqués par une hyperammoniémie, l'objectif du traitement est de faire diminuer la teneur sanguine en ammoniac. Pour cela, il faut favoriser son élimination et diminuer sa production.

- *Élimination de l'ammoniac sanguin :*

✓ Perfusion

Dans les cas où l'animal vomit, il perd des ions potassium. Cela déclenche le fonctionnement des pompes H⁺-K⁺ et provoque une alcalinisation du sang. Lorsque l'animal vomit, il convient donc de mettre en place une fluidothérapie peu alcaline (NaCl 0,9% + Glucose 5%), à compléter en potassium au besoin à 20mEq/L à un débit de 4 mL/kg/h, la complémentation étant à adapter ensuite en fonction de la kaliémie de l'animal (DENOVO, 2006).

- *Limitation de la production intestinale d'ammoniac :*

En prévention ou lors de crise, il est intéressant d'agir sur l'absorption intestinale de l'ammoniac et sur la limitation de sa production par la flore bactérienne ammoniogène.

✓ Lavement rectal

En cas de crise aiguë d'encéphalose hépatique, la réalisation d'un lavement rectal est indiquée afin d'éliminer rapidement l'ammoniac colique et de diminuer la flore colique ammoniogène (DENOVO, 2006). De la Bétadine diluée à 10% peut être utilisée pour le premier lavement car elle limite efficacement la flore colique et la production bactérienne d'encéphalotoxines. Par la suite on utilisera plutôt un mélange de lactulose à 30% et de néomycine à la dose de 20mg/kg pour les lavements, à réaliser TID ou QID pendant les 24-48 premières heures. La solution, d'un volume de 2 à 4 mL/kg doit être injectée doucement, au travers d'une sonde naso-oesophagienne par exemple (DENOVO, 2010).

✓ Laxatifs

L'administration de lactulose permet l'acidification du contenu du côlon donc la transformation d'ammoniac en ammonium qui est beaucoup moins absorbé, la limitation de la flore ammoniogène par son effet laxatif osmotique, et la limitation de la production bactérienne d'ammoniac car il constitue pour elles un substrat non protéique (DENOVO, 2006). L'administration se fait à la dose de 0,5 mL/kg PO BID, en adaptant les doses afin que les selles soient de consistance diminuée mais encore moulées (HERNANDEZ, 2010).

✓ Antibiothérapie

L'emploi des antibiotiques par voie orale est destiné à réduire la flore bactérienne ammoniogène et à prévenir l'apparition d'une bactériémie suite à des translocations

bactériennes depuis le tube digestif vers la circulation sanguine. Il est possible d'utiliser de la céfalexine à la dose de 15 mg/kg mg/kg PO BID ou TID, ou du métronidazole à la dose de 20 mg/kg BID (HONECKMAN, 2003). L'emploi de la néomycine est à éviter car elle est néphrotoxique et provoque rapidement des résistances bactériennes (DENOVO, 2006).

✓ Alimentation

Il convient de limiter l'apport protéique alimentaire et d'employer des protéines de qualité, pratiquement intégralement métabolisées, afin de limiter au maximum la production de déchets azotés. La réduction de l'apport protéique doit cependant être contrôlée, car un apport suffisant en acides aminés est essentiel au soutien de l'anabolisme et de la régénération des hépatocytes (ROUDEBUSH, 2000). En prévention, on utilisera une alimentation spécifique de type l/d (Hill's) ou hepatic (Royal Canin) par exemple plutôt qu'une alimentation rénale dont la teneur en protéines est trop faible et donc susceptible d'induire de l'ascite. En revanche, dans les cas d'encéphalose hépatique clinique, il faudra inévitablement effectuer une restriction protéique importante, à réadapter par la suite.

II) TRAITEMENT DE L'ASCITE ET DE L'HYPERTENSION PORTALE

- **Elimination de l'épanchement :**

✓ Diurétiques

Le traitement diurétique de choix est la Spironolactone, antagoniste de l'aldostérone, qui inhibe la réabsorption de sodium et d'eau, utilisée à la dose de 0,5 à 2 mg/kg BID. On préfère son emploi à celui du Furosémide qui active le système rénine-angiotensine, déjà activé lors d'hypertension portale, dont l'effet est moindre et qui induit plus d'effets indésirables. Dans le cas où la réponse au traitement avec de la Spironolactone est insuffisante, il est possible d'ajouter du Furosémide à la dose de 0,5 à 1 mg/kg BID. Il conviendra d'effectuer un suivi régulier de l'état d'hydratation et de la kaliémie (FAVIER, 2009).

✓ Quand réaliser une paracentèse abdominale ?

La réalisation d'une paracentèse abdominale n'est pas recommandée lors d'ascite, car elle risque d'aggraver l'hypoalbuminémie et ne résout pas la cause de la collection liquidienne qui va alors se reformer. La seule indication de la réalisation d'une paracentèse abdominale est l'urgence ventilatoire, c'est à dire lorsque l'épanchement abdominal est à l'origine d'une dyspnée sévère par compression mécanique de la cavité thoracique (DENOVO, 2006).

- **Prévention de la collection liquidienne :**

✓ Restriction sodique alimentaire

La limitation de l'apport en sodium à 0,10 à 0,25% de la matière sèche de l'aliment permet de diminuer la réabsorption rénale d'eau, et ainsi de limiter la surcharge volémique dans les cas d'hypertension portale (ROUDEBUSH, 2000). Ce critère est respecté dans les aliments spécifiques aux affections hépatiques ou rénales.

✓ Limitation de l'hypoalbuminémie

La limitation de l'hypoalbuminémie passe par un apport minimal de protéines alimentaires. Lorsque le taux d'albumine sanguin est inférieur à 1,5 g/L, il est indiqué de réaliser une perfusion de colloïdes ou une transfusion de plasma afin de limiter l'hypoalbuminémie. Il est aussi possible de perfuser de l'albumine humaine, bien que son utilisation en médecine vétérinaire reste controversée (VIGANO, 2010).

III) TRAITEMENT DES COAGULOPATHIES

Comme décrit dans le paragraphe I.3.2. (Monitoring de l'animal et anesthésie), le traitement des risques de coagulopathies consiste en l'administration pendant plusieurs jours de la vitamine K1 par voie sous-cutanée à la dose de 1 à 5 mg/kg/j, avant de réévaluer les paramètres de coagulation. S'ils ne sont toujours pas normalisés, ce qui est fréquent chez des animaux ne présentant pas de déficit en vitamine K au départ, le plasma d'un animal sain est perfusé à l'animal à raison de 10 mL/kg, à un débit de 4 à 6 mL/min après réalisation d'un cross-match (CHIARAMONTE, 2004).

IV) TRAITEMENT DES ULCÉRATIONS GASTRO-INTESTINALES

✓ Anti-sécrétoires et anti-acides

Le traitement des ulcérations gastro-intestinales n'est pas spécifique. Il repose sur l'utilisation d'anti-sécrétoires tels que la Ranitidine à la dose de 2 mg/kg PO BID, ou l'oméprazole à la dose de 0,7 mg/kg PO SID, ainsi que d'anti-acides tels que le Sucralfate à la dose de 0,5 à 1g/kg PO TID. Ce traitement peut être instauré en cas d'ulcères avérés mais aussi en prévention dès lors que l'hépatopathie est diagnostiquée (DENOVO, 2010).

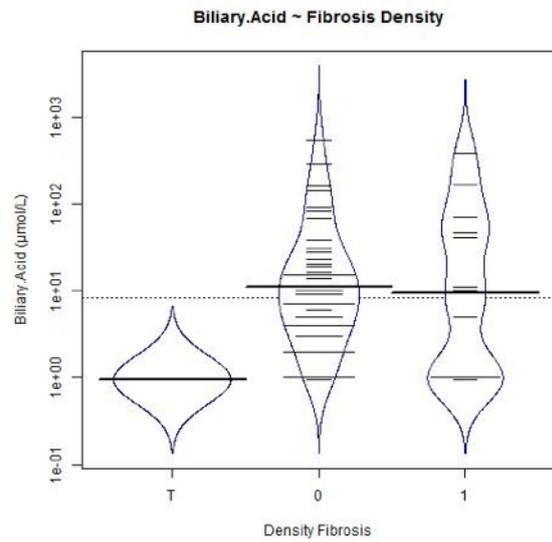
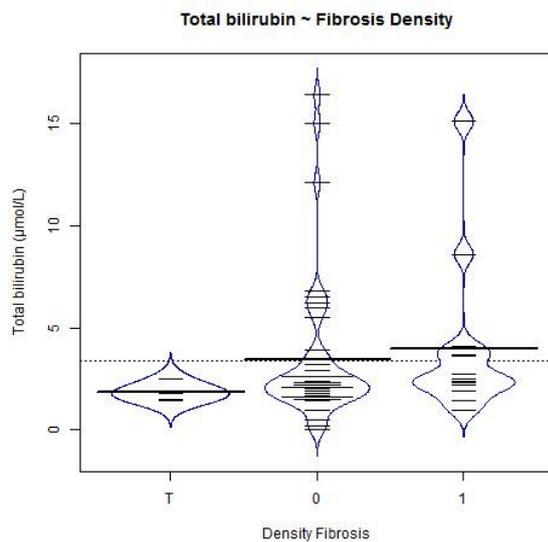
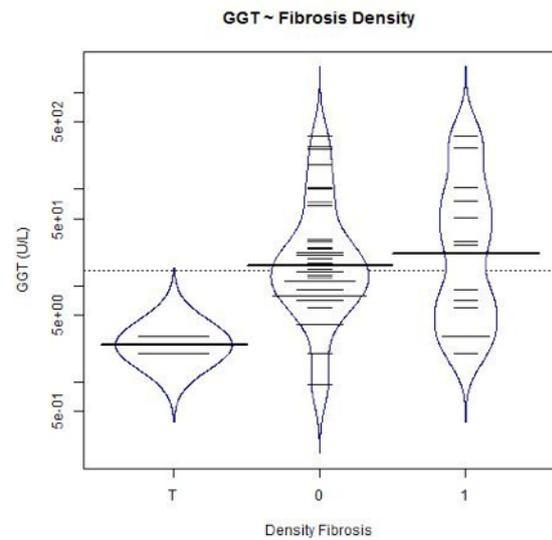
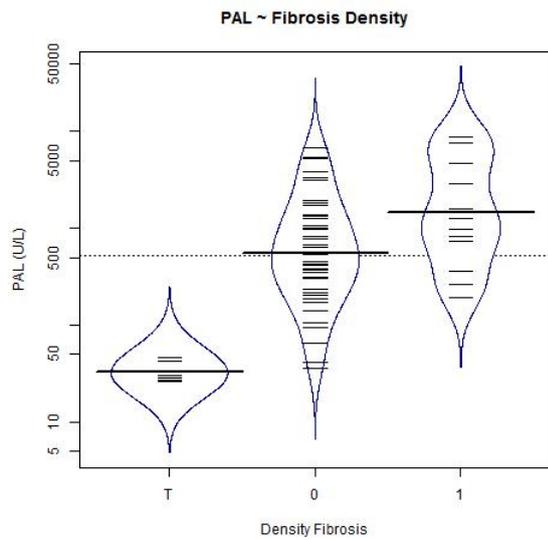
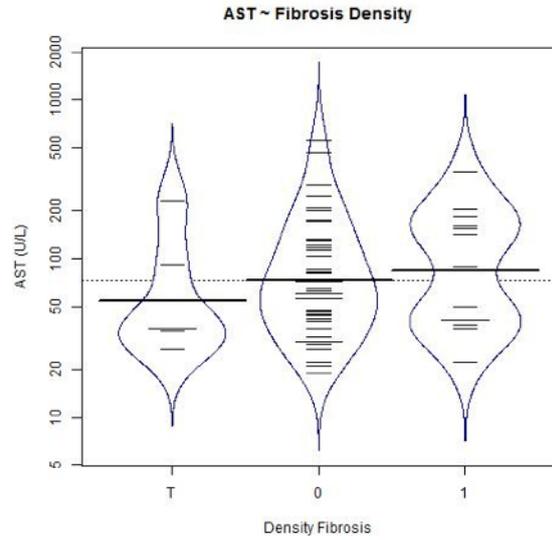
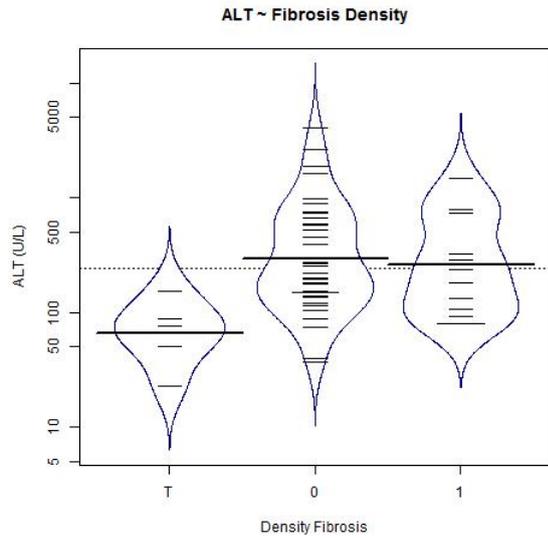
✓ Supplémentation en fer

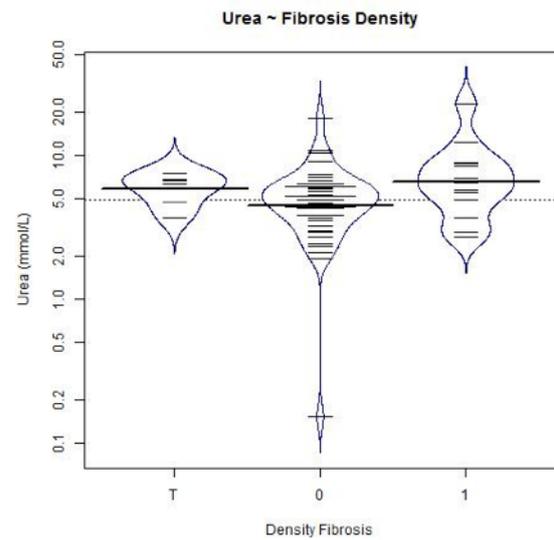
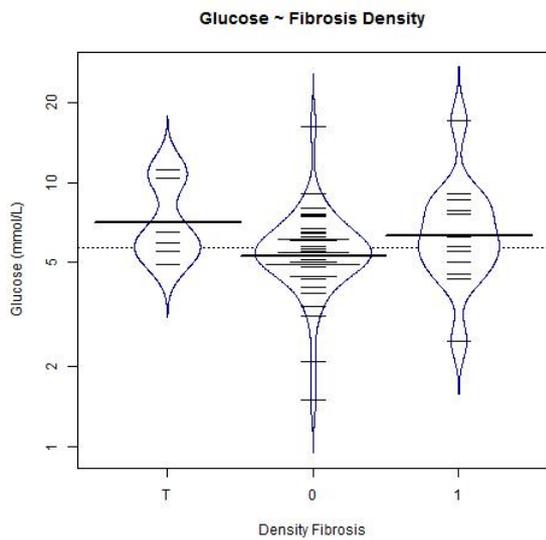
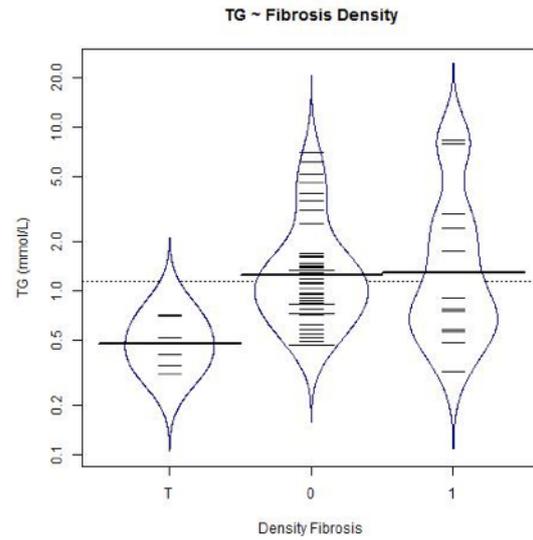
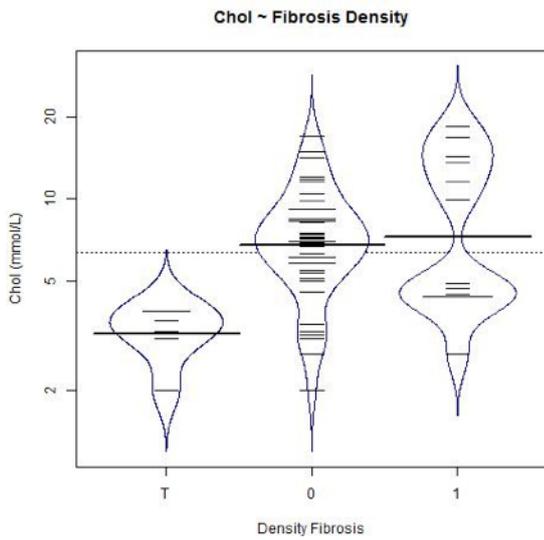
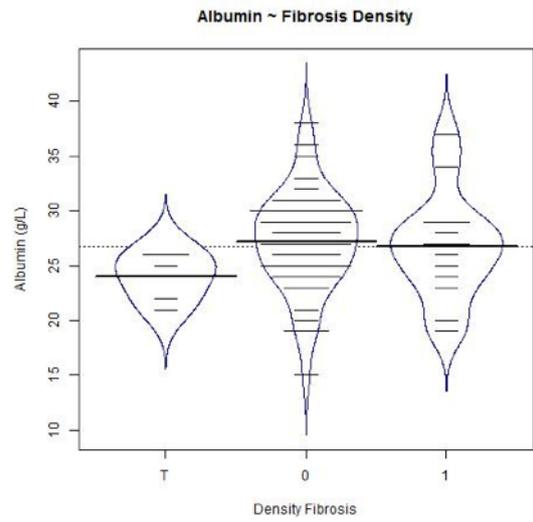
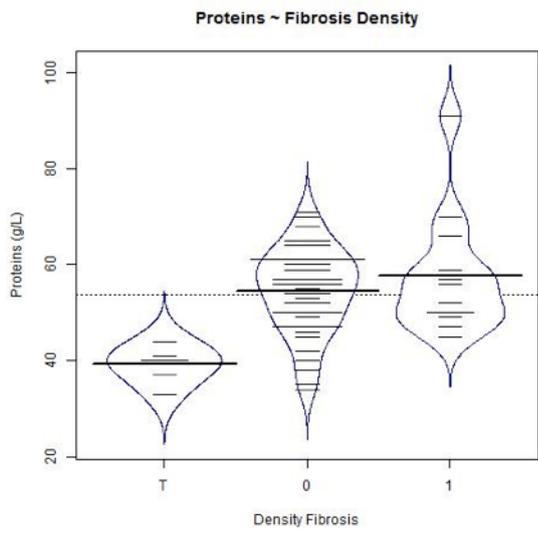
Une carence en fer peut être rencontrée lors de la survenue d'ulcérations ou d'hémorragies gastro-intestinales chroniques. Elle est objectivée sur le frottis sanguin par une microcytose. Dans ce cas uniquement il conviendra de réaliser une supplémentation en fer. La supplémentation ne doit pas être systématique, au contraire, car une surcharge en fer a un effet délétère : le fer étant un catalyseur des réactions d'oxydation, sa présence est responsable notamment de la peroxydation des lipides membranaires et de réactions oxydatives dans les organites (ROUDEBUSH, 2000).

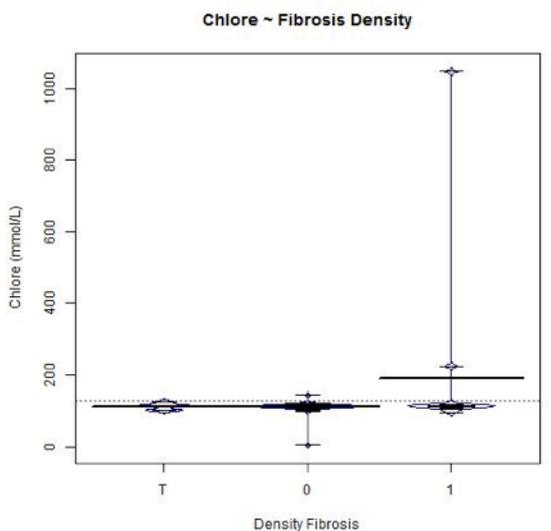
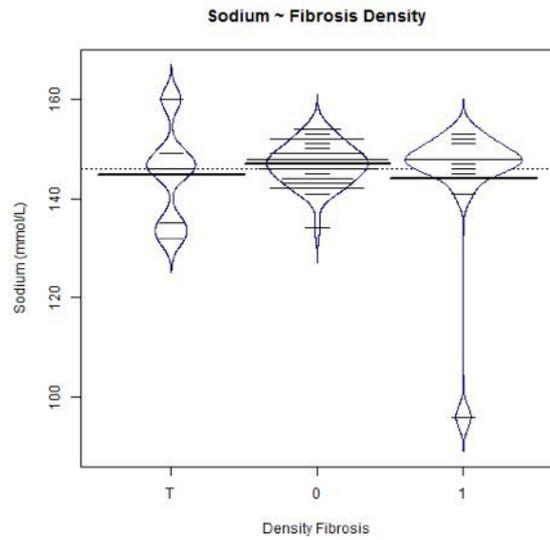
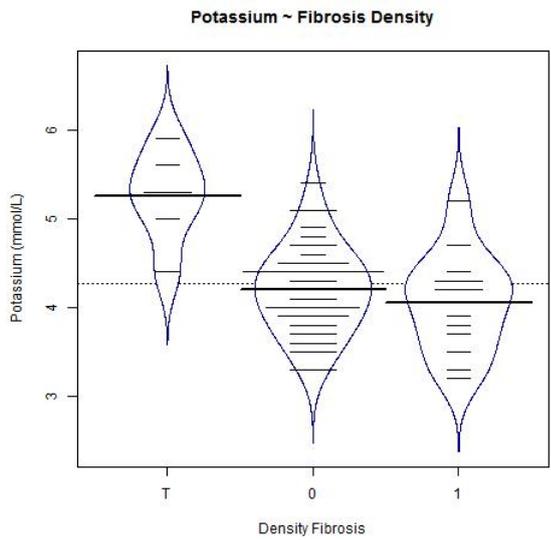
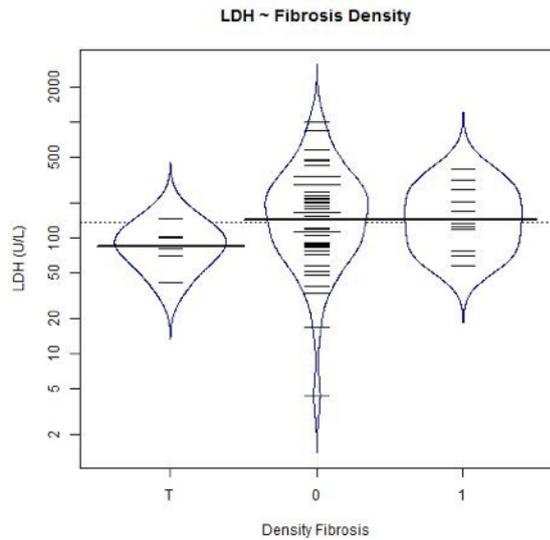
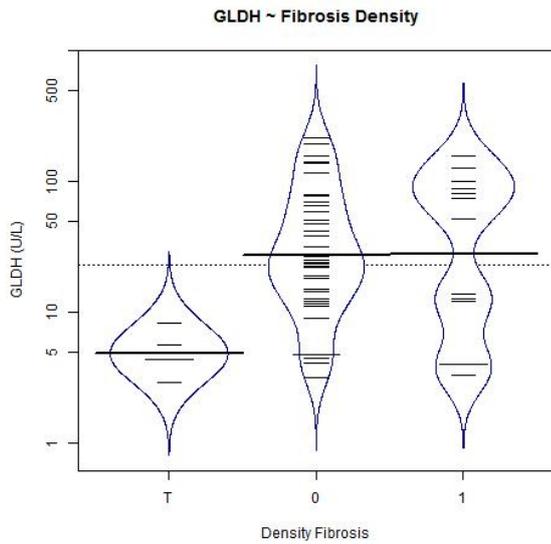
V) TRAITEMENT DES INFECTIONS BACTÉRIENNES

Une défaillance hépatique induit une diminution de la clairance hépatique des bactéries d'origine intestinale amenée par la veine porte. Ces bactéries sont donc le plus souvent des coliformes et des bactéries anaérobies. Les antibiotiques recommandés sont les pénicillines A : ampicilline sulbactam ou amoxicilline acide clavulanique à la dose de 22 mg/kg PO TID, la céfalexine à la dose de 15 mg/kg PO TID, associées éventuellement à du métronidazole à la dose de 7,5 mg/kg PO TID (DENOVO, 2006).

Annexe 3 : Représentations graphiques des résultats de l'étude expérimentale







Bean plots représentant les résultats de l'étude individuelle des biomarqueurs, prenant pour référence les résultats de la morphométrie. T = groupe témoin, 0 = stades F0 et F1, 1 = stades supérieurs ou égaux à F2. La barre en gras représente la médiane. La ligne en pointillés représente la valeur moyenne du paramètre.

Bibliographie

ADAMUS C., et al. (1997). Chronic hepatitis associated with leptospiral infection in vaccinated Beagles. *Journal of Comparative Pathology*, 117 (4), pp. 311-328.

AHMAD A., AHMAD R. (2012). Understanding the mechanism of hepatic fibrosis and potential therapeutic approaches. *The Saudi Journal of Gastroenterology*, 18 (3), pp. 155-167.

ANDERSSON M., SEVELIUS E. (1992). Circulating autoantibodies in dogs with chronic liver disease. *Journal of Small Animal Practice*, 33 (8), pp. 389-394.

ANTHONY P.P., et al. (1977). The morphology of cirrhosis: definition, nomenclature, and classification. *Bulletin of the World Health Organisation*, 55 (4), pp. 521-540.

BARR S.C., et al. (1992). Platelet aggregation in dogs after sedation with acepromazine and atropine and during subsequent general anesthesia and surgery. *American Journal of Veterinary Research*, 53 (11), pp. 2067-2070.

BARTHEZ P.Y. 2006, Imagerie du foie et des voies biliaires. *Pratique médicale et chirurgicale des animaux de compagnie*, 41 (1), pp. 225-231.

BATTS K.P., LUDWIG J. (1995). Chronic hepatitis. An update on terminology and reporting. *American journal of surgical pathology*, 19 (12), pp. 1409-1417.

BEDOSSA P., POYNARD T. (1996). An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. The METAVIR cooperative study group. *Hepatology (Baltimore, Md)*, 24 (2), pp. 289-293.

BEXFIELD N.H., et al. (2011). Chronic hepatitis in the English springer spaniel : clinical presentation, histological description and outcome. *Veterinary Record*, pp. 1-6.

BEXFIELD N.H., et al. (2012). Breed, age and gender distribution of dogs with chronic hepatitis in the United Kingdom. *Veterinary Journal (London, England : 1997)*, 193 (1), pp. 124-128.

BEXFIELD N.H., et al. (2014). Canine hepacivirus is not associated with chronic liver disease in dogs. *Journal of viral hepatitis*, 21 (3), pp. 223-228.

BIGGE L.A., BROWN D.J., PENNICK D.G. (2001). Correlation between coagulation profile findings and bleeding complications after ultrasound-guided biopsies: 434 cases (1993-1996). *Journal of the American Hospital Association*, 37 (3), pp. 228-233.

BREWER G.J., et al. (1992). Use of zinc acetate to treat copper toxicosis in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 201 (4), pp. 564-568.

BRUNS T., et al. (2016). Low serum transferrin correlates with acute-on-chronic organ failure and indicates short-term mortality in decompensated cirrhosis. *Liver International: Official Journal of the International Association for the Study of the Liver* [en ligne], early view before inclusion in an issue. Disponible sur: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/liv.13211/full> [consulté le 21 août 2016]

CAI W.M., et al. (2004). [The diagnostic value of eight serum indices for liver fibrosis]. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi = Zhonghua Ganzangbing Zazhi = Chinese Journal of Hepatology*, 12 (4), pp. 219-222.

CALÈS P., et al. (2005). A novel panel of blood markers to assess the degree of liver fibrosis. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 42 (6), pp. 1373-1381.

CENTER S.A. Chronic hepatitis, cirrhosis, breed-specific hepatopathies, copper storage hepatopathy, suppurative hepatitis, granulomatous hepatitis, and idiopathic fibrosis. In: GUILDFORD W.G., et al. (dir.) (1996). *Strombeck's small animal gastroenterology third edition*. Philadelphia: Saunders Elsevier, pp. 705-720.

CHANG T.T., et al. (2010). Long-term entecavir therapy results in the reversal of fibrosis/cirrhosis and continued histological improvement in patients with hepatitis B. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 52 (3), pp. 886-893.

CHIARAMONTE D. (2004). Blood-component therapy: selection, administration and monitoring. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, 19 (2), pp. 63-67.

CHOUINARD L., et al. (1998). Use of polymerase chain reaction and immunohistochemistry for detection of canine adenovirus type 1 in formalin-fixed, paraffin-embedded liver of dogs with chronic hepatitis or cirrhosis. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation: Official Publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 10 (4), pp. 320-325.

CHROSTEK L., et al. (2014). The effect of the severity of liver cirrhosis on the level of lipids and lipoproteins. *Clinical and Experimental Medicine*, 14 (4), pp. 417-421.

COLE T.L., et al. (2002). Diagnostic comparison of needle and wedge biopsy specimens of the liver in dogs and cats. *Journal of American Veterinary Medical Association*, 220 (10), pp. 1483-1490.

CULLEN J.M. Diagnostic approach to hepatobiliary problems. In: WASHABEAU R.J. DAY M.J. (dir.) (2013). *Canine & feline gastroenterology*. St Louis, Missouri: Saunders Elsevier pp. 362–385.

DAYRELL-HART B., et al. (1991). Hepatotoxicity of phenobarbital in dogs: 18 cases (1985-1989). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 199 (8), pp. 1060-1066.

DESMET V.J. et al. (1994). Classification of chronic hepatitis: diagnosis grading, and staging. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 19 (6), pp. 1513-1520.

DENOVO R., et al. (2006). Traitement des hépatites chroniques, in *Pratique médicale et chirurgicale de l'animal de compagnie, numéro spécial foie et pancréas, 2006*, pp. 261-268.

DENOVO R. Hépatites chroniques. In: LECOINDRE P., et al. (dir.) (2010). *Gastroentérologie du chien et du chat*. Rueil-Malmaison : Editions du Point Vétérinaire, pp. 410-425.

DIENSTAG J.L., et al. (2003). Histological outcome during long-term lamivudine therapy. *Gastroenterology*, 124 (1), pp. 105-117.

ENGSTROM-LAURENT A., et al. (1985). Increased Serum Levels of Hyaluronate in liver diseases. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 5 (4), pp. 638-642.

FAVIER R.P. (2009). Idiopathic hepatitis and cirrhosis in dogs. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, 39 (3), pp. 481-488.

FAVIER R.P., et al. (2013), A retrospective study of oral prednisolone treatment in canine chronic hepatitis. *The Veterinary Quarterly*, 33 (3), pp. 113-120.

- FERRELL L. (2013).** Liver update on staging of fibrosis and cirrhosis [en ligne]. *UCSF departments of Pathology and Laboratory Medicine, University of California, San Francisco*, pp.1-22.
Disponible sur: https://www.pathology.ucsf.edu/uploads/472/227_Ferrell,%20LiverUpdateOnStagingOfFibrosisAndCirrhosis.pdf [consulté le 23 octobre 2015]
- FRIEDMAN S.L. (2015).** Hepatic fibrosis: emerging therapies. *Digestive Diseases (Basel, Switzerland)*, 33 (4), pp. 504-507.
- FUENTEALBA C., et al. (1997).** Chronic hepatitis: a retrospective study in 34 dogs, *The Canadian Veterinary Journal. La Revue Vétérinaire Canadienne*, 38 (6), pp. 365-373.
- JOSSIER R., FUSELLIER M., LABORDE A.** Affection de l'abdomen : Foie : hépatites chroniques canines, cirrhose. In: JOSSIER R., FUSELLIER M., LABORDE A. (dir.) (2013). *L'imagerie médicale du chat et du chien au service du praticien*. Issy-les-Moulineaux: Elsevier Masson, pp. 204-207
- GARCIA-TSAO G., et al. (2010).** Now there are many (stages) where before there was one: In search of a pathophysiological classification of cirrhosis. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 51 (4), pp. 1445-1449.
- GAUTRON L., LAYE S. (2010).** Neurobiology of inflammation-associated anorexia, [en ligne]. *Frontiers of neuroscience, Neuropharmacology*, 3 (59), pp. 1-10.
Disponible sur: <http://dx.doi.org/10.3389/neuro.23.003.2009> [consulté le 12 octobre 2015]
- GILLESPIE T.N., et al. (2003).** Detection of *Bartonella henselae* and *Bartonella clarridgeiae* DNA in hepatic specimens from two dogs with hepatic disease. *Journal of the American Veterinary Medicine Association*, 222 (1), pp. 47-51.
- GOLDIN R., et al. (1996).** Intra-observer and inter-observer variation in the histopathological assessment of chronic viral hepatitis. *Journal of Hepatology*, 25 (5), pp. 649-654.
- GOLDNER F. (1979).** Comparison of the Menghini, Klatskin and Tru-Cut needles in diagnosing cirrhosis. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 1 (3), pp. 229-231.
- GOLDSTEIN R.E., et al. (2006).** Influence of infecting serogroup on clinical features of leptospirosis in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 20 (3), pp. 489-494.
- GOMEZ SELGAS A., et al. (2014).** Total serum bilirubin as a negative prognostic factor in idiopathic canine chronic hepatitis. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation: Official Publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc.*, 26 (2), pp. 246-251.
- GREENBLATT H.K., GREENBLATT D.J. (2014).** Liver injury associated with ketoconazole: review of the published evidence. *Journal of Clinical Pharmacology*, 54 (12), pp. 1321-1329.
- GREENE, S.A., GRAUER G.F.** Anaesthesia and analgesia of patients with specific diseases: Hepatic disease. In: TRANQUILLI W.J., THURMON J.C., GRIMM K.A. (dir.) (2007). *Lumb & Jones' Veterinary Anesthesia and Analgesia, fourth edition*. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell, pp. 921-926.
- GRESSNER, A.M., et al. (2006).** Connective Tissue Growth Factor in Serum as a New Candidate Test for Assessment of Hepatic Fibrosis. *Clinical Chemistry*, 52 (9), pp. 1815-1817.
- GRESSNER, O.A., GAO C. (2014).** Monitoring Fibrogenic Progression in the Liver. *Clinica Chimica Acta ; International Journal of Clinical Chemistry*, 433, pp. 111-122.

GROSS T.L., et al. (1993). Superficial necrolytic dermatitis (necrolytic migratory erythema) in dogs. *Veterinary Pathology*, 30 (1), pp. 75-81.

GROSS T.L., et al. Superficial necrolytic dermatitis (necrolytic migratory erythema) in dogs. In: GROSS T.L., et al. (dir.) (2005). *Skin diseases of the dog and cat: clinical and histopathologic diagnosis, second edition*. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell, pp. 86-91.

HALFON P., MUNTEANU A., POYNARD T. (2008). FibroTest-ActiTest as a Non-Invasive Marker of Liver Fibrosis. *Gastroentérologie Clinique Et Biologique*, 32 (6, suppl.1), pp. 22-39.

ROUDEBUSH P., DAVENPORT D.J., DIMSKI D. Maladies hépatobiliaires. In : HAND M.S., et al. (dir.) (2000). *Nutrition clinique des animaux de compagnie quatrième édition*. Nichelino, Torino : Mark Morris Institute, pp. 841-879.

HAYWOOD S., RUTGERS H.C., CHRISTIAN M.K. (1988). Hepatitis and copper accumulation in Skye terriers. *Veterinary pathology*, 25 (6), pp. 408-414.

HERNANDEZ J., TOULZA O. Approche diagnostique des affections hépatiques. In: LECOINDRE P., et al. (dir.) (2010). *Gastroentérologie du chien et du chat*. Rueil-Malmaison : Editions du Point Vétérinaire, pp. 400-406.

HOFFMANN G., et al. (2006). Copper-Associated Chronic Hepatitis in Labrador Retrievers. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 20 (4), pp. 856-861.

HUI, A.Y., et al. (2004). Quantitative Assessment of Fibrosis in Liver Biopsies from Patients with Chronic Hepatitis B. *Liver International: Official Journal of the International Association for the Study of the Liver*, 24 (6), pp. 611-618.

HULTGREN, B.D., STEVENS J.B., HARDY R.M. (1986). Inherited, chronic, progressive hepatic degeneration in Bedlington terriers with increased liver copper concentrations: clinical and pathologic observations and comparison with other copper-associated liver diseases. *American Journal of Veterinary Research*, 47 (2), pp. 365-377.

HYTIROGLOU P., et al. (2012). Beyond "cirrhosis": a proposal from the International Liver Pathology Study Group. *American Journal of Clinical Pathology*, 137 (1), pp. 5-9.

ISHAK K., et al. (1995). Histological grading and staging of chronic hepatitis. *Journal of Hepatology*, 22 (6), pp. 696-699.

JARRETT W.F., O'NEIL B.W. (1985). A new transmissible agent causing acute hepatitis, chronic hepatitis and cirrhosis in dogs. *The Veterinary Record*, 116 (24), pp. 629-635.

JOHNSON S.E. Parenchymal disorders. In: WASHABEAU R.J., DAY M.J. (dir.) (2013). *Canine & feline gastroenterology*. St. Louis, Missouri: Saunders Elsevier, pp. 879-904.

KANEMOTO H., et al. (2013). American Cocker spaniel chronic hepatitis in Japan. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 27 (5), pp. 1041-1048.

KNODELL R.G., et al. (1981). Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology, (Baltimore, Md)*, 1 (5), pp. 431-435.

- KOUKOULIS G.K., et al. (2001).** Vitronectin in the cirrhotic liver: an immunomarker of mature fibrosis. *Human Pathology*, 32 (12), pp. 1356-1362.
- KRISTAL O., et al. (2004).** Hepatotoxicity associated with CCNU (lomustine) chemotherapy in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 18 (1), pp. 75-80.
- KROPF J., GRESSNER A.M., TITTOR W. (1991).** Logistic-regression model for assessing portal hypertension by measuring hyaluronic acid (hyaluronan) and laminin in serum. *Clinical Chemistry*, 37 (1), pp. 30-35.
- LARSON M.M.** The liver and spleen. In: THRALL D.E. (dir.) (2002). *Textbook of veterinary diagnostic radiology, sixth edition*. St. Louis, Missouri: Saunders Elsevier, pp. 679-705.
- LEE U.E., FRIEDMAN S.L. (2011).** Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Best Practice & Research. Clinical Gastroenterology*, 25 (2), pp. 195-206.
- LI, G. et al. (2006).** Inhibition of connective tissue growth factor by siRNA prevents liver fibrosis in rats. *The Journal of Gene Medicine*, 8 (7), pp. 889-900.
- LIU, X.Y. et al. (2016 a).** Combined detection of liver stiffness and C-reactive protein in patients with hepatitis B virus-related liver cirrhosis, with and without hepatocellular carcinoma. *Molecular and Clinical Oncology*, 4 (4), pp. 587-590.
- LIU, X.Y. et al. (2016 b).** Fibronectin expression is critical for liver fibrogenesis in vivo and in vitro. *Molecular Medicine Reports* [en ligne], early view before inclusion in an issue, pp. 1-7.
Disponible sur: <https://www.spandidos-publications.com/10.3892/mmr.2016.5673> [consulté le 27 août 2016]
- LIDBURY, J.A., STEINER J.M.** Diagnostic evaluation. In: WASHABEAU R.J., DAY M.J. (dir.) (2013). *Canine & feline gastroenterology*. St. Louis, Missouri: Saunders Elsevier, pp. 863-875.
- LYDATAKIS, H. et al. (2006).** Non-invasive markers to predict the liver fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease. *Best Practice & Research. Liver International*, 26 (7), pp. 864-871.
- MA, L.N. et al. (2015).** Serum high-sensitivity C-reactive protein are associated with HBV replication, liver damage and fibrosis in patients with chronic hepatitis B. *Hepatogastroenterology*, 62 (138), pp. 368-372.
- MA, J.C. et al. (2016).** Tenascin-C promotes Migration of hepatic stellate cells and production of type I collagen. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 8 (8), pp. 1-8.
- MANDIGERS, P.J.J., et al. (2004).** Association between liver copper concentration and subclinical hepatitis in Doberman pinchers. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 18 (5), pp. 647-650.
- MANNAN, R. et al. (2014).** A comparative evaluation of scoring systems in liver biopsies of patients with chronic viral hepatitis. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 8 (8), pp. 8-12.
- MAYHEW P.D., WEISSE C.** Liver and biliary system. In: TOBIAS, K.M., JOHNSTON S.A. (dir.) (2012). *Veterinary Surgery: small animal*. St. Louis, Missouri: Elsevier Health Sciences, vol. 2, pp. 1601-1624.

MEYER, D.J. Hepatic pathology. In: GUILDFORD W.G., et al. (dir.) (1996). *Strombeck's small animal gastroenterology third edition*. Philadelphia: Saunders Elsevier, pp. 633-653.

MUNOZ-LUQUE, J., et al. (2008). Regression of fibrosis after chronic stimulation of cannabinoid CB2 receptor in cirrhotic rats. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 324 (2), pp. 475-483.

NYLAND T.G., FISCHER P.E. (1990). Evaluation of experimentally induced canine hepatic cirrhosis using duplex Doppler ultrasound. *Veterinary Radiology*, 31 (4), pp. 189-194.

NYLAND T.G., LARSSON M.M., MATTOON J.S. Liver. MATTOON J.S. NYLAND Y.G. (dir.) (2015). *Small animal diagnostic ultrasound, third edition*. St. Louis, Missouri: Saunders Elsevier, pp. 331-391.

POLDERVAART J.H., et al. (2009). Primary Hepatitis in Dogs: A Retrospective Review (2002-2006). *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 23 (1), pp. 72-80.

PENG Z., et al. (2008). Ecto-5'-nucleotidase (CD73) -mediated extracellular adenosine production plays a critical role in hepatic fibrosis. *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 22 (7), pp. 2263-2272.

POND E.C., MORROW D. (1982). Hepatotoxicity associated with methotrexate therapy in a dog. *Journal of Small Animal Practice*, 23 (10), pp. 659-666.

POYNARD T., et al. (2002). Impact of pegylated interferon alfa-2b and ribavirin on liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology*, 122 (5), pp. 1303-1313.

POYNARD T., et al. (2010). ActiTest accuracy for the assessment of histological activity grades in patients with chronic hepatitis C, an overview using Obuchowski measure. *Gastroentérologie clinique et biologique*, 34 (6-7), pp. 388-396.

RAKICH P.M., et al. (1986). Immunohistochemical detection of canine adenovirus in paraffin sections of liver. *Veterinary Pathology*, 23 (4), pp. 478-484.

RALLIS T., et al. (2005). Chronic hepatitis in dogs associated with canine leishmaniosis (*Leishmania infantum*): a clinicopathological study of 26 cases. *Journal of Comparative Pathology*, 132 (2-3), pp. 145-152.

RASTOGI A., et al. (2013). Cirrhosis histology and Laennec staging system correlate with high portal pressure. *Histopathology*, 62 (5), pp. 731-741.

RAWLINGS C.A., HOWERTH, E. (2004). Obtaining quality biopsies of the liver and kidney. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 40 (5), pp. 352-358.

RAWLINGS C.A., et al. Laparoscopy. In: TAMS T.R., RAWLINGS C.A. (dir.) (2011). *Small animal endoscopy, third edition*. St. Louis, Missouri: Saunders Elsevier, pp. 397-478.

RIVERO-JUAREZ A., et al. (2004). Liver stiffness using transient elastography is applicable to canines for hepatic disease models. *PLoS ONE*, 7 (7), pp. 1-4.

ROLFE D.S., TWEDT D.C. (1995). Copper-associated hepatopathies in dogs. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 25 (2), pp. 399-417.

ROTHUIZEN J., World Small Animal Veterinary Association, Liver Standardization Group (2006). *WSAVA Standards for Clinical and Histological Diagnosis of Canine and Feline Liver Diseases*. Philadelphia, Pennsylvania: Saunders Elsevier, 143 p.

ROTHUIZEN J. (2009 a). Important clinical syndromes associated with liver disease. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, 39 (3), pp. 419-437.

ROTHUIZEN J., TWEDT, D.C. (2009 b). Liver biopsy techniques. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, 39 (3), pp. 469–480.

ROTHUIZEN J., VAN DEN INGH T.S. (1982). Arterial and venous ammonia concentrations in the diagnosis of canine encephalopathy. *Research in veterinary science*, 33 (1), pp. 17-21.

SANDRIN L., et al. (2003). Transient elastography: a new noninvasive method for assessment of hepatic fibrosis. *Ultrasound in medicine and biology*, 29 (12), pp. 1705-1713.

SCHAEFER B., et al. (2015). Impaired hepcidin expression in alpha-1 antitrypsin deficiency associated with iron overload and progressive liver disease. *Human molecular genetics*, 24 (21), pp. 6254-6263.

SCHERK M.A., et al. 2010, Toxic, metabolic, infectious and neoplastic liver diseases. In: ETTINGER S.J., FELDMAN E.C. (dir.) (2010). *Textbook of veterinary internal medicine, seventh edition*. St. Louis, Missouri: Saunders Elsevier, vol. 2, pp. 1672-1687.

SEVELIUS E. (1995). Diagnosis and Prognosis of Chronic Hepatitis and Cirrhosis in Dogs. *The Journal of Small Animal Practice*, 36 (12), pp. 521-528.

SJOWALL C. (2012). High prevalence of autoantibodies to C-reactive protein in patients with chronic hepatitis C infection: association with liver fibrosis and portal inflammation. *Human Immunology*, 73 (4), pp. 382-388

SMEDLEY R., MULLANEY T., RUMBEIHA W. (2009). Copper-associated hepatitis in Labrador Retrievers. *Veterinary Pathology*, 46 (3), pp. 484-490.

SPEE B., et al. (2006). Copper metabolism and oxidative stress in chronic inflammatory and cholestatic liver diseases in dogs. *Veterinary Journal of Internal Medicine*, 20 (5), pp. 1085-1092.

SPEETI M., et al. (1998). Upregulation of major histocompatibility complex class II antigens in hepatocytes in Doberman hepatitis. *Veterinary immunology and immunopathology*, 96 (1-2), pp. 1-12.

STOCKHAM S.L., SCOTT M.A. Enzymes. In: STOCKHAM S.L., SCOTT M.A. (dir.) (2008). *Fundamentals of veterinary clinical pathology, second edition*. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell, pp. 639-674.

STROMBECK, D.R. (dir.) (1979). *Small animal gastroenterology*. Davis, California: Stonegate publishing, 564 p.

STROMBECK D.R., MILLER L.M., HARROLD D. (1988). Effects of corticosteroid treatment on survival time in dogs with chronic hepatitis: 151 cases (1977-1985). *Journal of American Veterinary Medicine Association*, 193 (9), pp. 1109-1113.

TENNANT B.C., CENTER S.A. Hepatic function. In: KANEKO J.J., HARVEY J.W., BRUSS M.L. (dir.) (2008). *Clinical Biochemistry of Domestic Animals, sixth Edition*. San Diego: Academic Press, Elsevier, pp. 379-412.

The Merck Veterinary manual [en ligne]. 2015a : Hematologic reference ranges. Disponible sur : http://www.merckvetmanual.com/mvm/appendixes/reference_guides/hematologic_reference_ranges.html [consulté le 13 mars 2016]

The Merck Veterinary manual. [en ligne]. 2015b : Serum biochemical reference ranges. Disponible sur : http://www.merckvetmanual.com/mvm/appendixes/reference_guides/serum_biochemical_reference_ranges.html [consulté le 18 mars 2016]

THEISE N.D. (2007). Liver biopsy assessment in chronic viral hepatitis: a personal practical approach. *Modern Pathology*, 20 (1s), pp. 3-14.

THEISE N.D. Liver and gallbladder. In: KUMAR V., N.D., ABBAS A.K., ASTER J.C. (dir.) (2015) *Robbins and Cotran pathologic basis of disease, ninth edition*. Philadelphia: Saunders Elsevier, pp. 821-844.

THORNBURG L.P., et al. (1986). Hereditary copper toxicosis in West Highland White Terriers. *Veterinary Pathology*, 23 (2), pp. 148-154.

THORNBURG L.P., et al. (1990). Hepatic copper concentrations in purebred and mixed-breed dogs. *Veterinary Pathology*, 27 (2), pp. 81-88.

THORNBURG L.P., et al. (1996). The relationship between hepatic copper content and morphologic changes in the liver of West Highland White Terriers. *Veterinary Pathology*, 33 (6), pp. 656-661.

THORNBURG L.P. (1998). Histomorphological and immunohistochemical studies of chronic active hepatitis in Doberman Pinschers. *Veterinary Pathology*, 35 (5), pp. 380-385.

TISCHENDORF M., et al. (2016). Differential Kinetics of Coagulation Factors and Natural Anticoagulants in Patients with Liver Cirrhosis: Potential Clinical Implications. *PLoS ONE*, 11 (5), pp. 1-9.

TRABUT J.B. (2009). The METAVIR scoring system. *Hépatogastro & Oncologie digestive*, 16 (3), pp. 219-220.

VASANJEE S.C., et al. (2006). Evaluation of hemorrhage, sample size, and collateral damage for five hepatic biopsy methods in dogs. *Veterinary Surgery: VS*, 35 (1), pp. 86-93.

VIGANO F., PERISSINOTTO L., BOSCO V.R.F. (2010). Administration of 5% human serum albumin in Critically ill small Animal Patients with hypoalbuminemia: 418 Dogs and 170 Cats (1994-2008). *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 20 (2), pp. 237-243.

WANLESS I.R., NAKASHIMA E., SHERMAN M. (2000). Regression of human cirrhosis. Morphologic features and the genesis of incomplete septal cirrhosis. *Archives of pathology and laboratory medicine*, 124 (11), pp. 1599-1607.

WATSON P.J., et al. (2010). Prevalence of hepatic lesions at post-mortem examination in dogs and association with pancreatitis. *The Journal of Small Animal Practice*, 51 (11), pp. 566-572.

WEBB C.B., TWEDT D.C., MEYER D.J. (2002). Copper-associated liver disease in Dalmatians: a review of 10 dogs (1998 - 2001). *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 16 (6), pp. 665-668.

WEBSTER C.R.L. History, clinical signs, and physical findings in hepatobiliary disease. In: ETTINGER S.J., FELDMAN E.C. (dir.) (2010). *Textbook of veterinary internal medicine, seventh edition*. St. Louis, Missouri: Saunders Elsevier, vol. 2, pp. 1612–1625.

WEISS D.J., ARMSTRONG P.J., MRUTHYUNJAYA A. (1995). Anti-liver membrane protein antibodies in dogs with chronic hepatitis. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 9 (4), pp. 267-271.

WILLIS S., et al. (1989). Whole blood platelet aggregation in dogs with liver disease. *American Journal of Veterinary Research*, 50 (11), pp. 1893-1897.

ZENG D.W., et al. (2013). Serum ceruloplasmin levels correlate negatively with liver fibrosis in males with chronic hepatitis B: a new noninvasive model for predicting liver fibrosis in HBV-related liver disease. *PLoS ONE*, 8 (10), e77942, pp. 1-12.

TOUZET CHLOÉ

**BIOMARQUEURS DE LA FIBROSE HÉPATIQUE CHEZ LE CHIEN:
MISE EN PLACE D'UN SCORE CARACTÉRISANT LA FIBROSE
HÉPATIQUE À PARTIR DE L'ÉTUDE DE BIOMARQUEURS
HÉPATIQUES CHEZ 61 CHIENS.**

Thèse d'État de Doctorat Vétérinaire : Lyon, le 20 octobre 2016

RÉSUMÉ :

La fibrose hépatique est une séquelle non spécifique de lésions hépatocellulaires caractérisée par une augmentation de la quantité de la matrice extracellulaire hépatique et une altération de sa qualité. Elle engendre des modifications histologiques allant jusqu'à des remaniements architecturaux majeurs affectant la fonctionnalité des hépatocytes. L'altération de la fonction hépatique et ses répercussions systémiques étant tardives et peu spécifiques, le diagnostic précoce est difficile. Actuellement, la méthode de référence pour l'établissement du diagnostic est l'analyse histologique de biopsies hépatiques. Toutefois, cette méthode est invasive donc peu adaptée au dépistage ou au suivi des hépatites chroniques associées à de la fibrose. L'étude menée dans ce document vise à établir un score constitué de biomarqueurs sanguins facilement dosables en routine, corrélé aux résultats de l'examen histologique. Un score de fibrose composé de 6 marqueurs (phosphatases alcalines, bilirubine totale, gamma-glutamyltransférase, glucose, triglycérides, potassium) a été constitué. Cette étude préalable est prometteuse, le score constitué permettant une distinction satisfaisante entre la présence et l'absence de fibrose, mais il serait intéressant de la mener sur une plus grande population afin d'obtenir des résultats plus significatifs, voire de pouvoir distinguer les différents stades histologiques de fibrose.

MOTS CLÉS :

- Hépatite
- Fibrose
- Chien
- Marqueurs biologiques
- Scores en médecine

JURY :

Président : Monsieur le Professeur Fabien ZOULIM
1^{er} Assesseur : Monsieur le Professeur Jean-Luc CADORÉ
2^{ème} Assesseur : Monsieur le Professeur Thierry MARCHAL

DATE DE SOUTENANCE : 20 octobre 2016

ADRESSE DE L'AUTEUR : 66B RUE GILLIBERT, 13005 MARSEILLE