

# FIBROSE HÉPATIQUE CHEZ LE CHIEN, PROPOSITION D'UN NOUVEAU TEST BIOLOGIQUE NON INVASIF D'ÉVALUATION DE LA FIBROSE HÉPATIQUE CHEZ LE CHIEN

## HEPATIC FIBROSIS IN DOGS, PROPOSAL FOR A NEW NON-INVASIVE BIOLOGICAL TEST FOR THE EVALUATION OF HEPATIC FIBROSIS IN DOGS

Par Patrick LECOINDRE<sup>(1)</sup>, Michèle CHEVALLIER<sup>(2)</sup>, Alexis LECOINDRE<sup>(3)</sup> & Maud MENARD<sup>(4)</sup>

(Communication présentée le 4 Avril 2019, manuscrit accepté le 10 Octobre 2020)

### RÉSUMÉ

L'évaluation de la fibrose hépatique est incontournable dans l'évaluation et la gestion thérapeutique des hépatopathies chroniques canines. Les données épidémiologiques, la clinique, la biologie ou l'échographie ne permettent généralement pas de confirmer l'existence d'une hépatite chronique et d'une fibrose, sauf dans les cas d'affections très évoluées au stade de cirrhose. L'histologie hépatique est incontournable pour établir un diagnostic fiable et un pronostic, mais il existe des variations importantes d'interprétation des images histologiques et le caractère invasif de l'acte biopsique est souvent un frein pour le propriétaire et le praticien. Au cours des dernières années, des approches non invasives basées sur la mesure de plusieurs biomarqueurs sanguins ont été validées et sont largement utilisées en médecine humaine. Une étude récente chez le chien a eu pour objectif de construire un test biologique non invasif permettant de diagnostiquer et d'évaluer la fibrose hépatique chez le chien.

**Mots-clés :** hépatite chronique, fibrose, chien

### ABSTRACT

*Evaluation of hepatic fibrosis is essential in the evaluation and therapeutic management of chronic canine liver diseases. Epidemiological data, clinics, biology or ultrasound generally do not confirm the existence of chronic hepatitis and fibrosis, except in cases of highly advanced cirrhosis. Hepatic histology is essential for establishing a reliable diagnosis and prognosis, but there are significant variations in the interpretation of histological images and the invasiveness of the biopsy act is often a hindrance for the owner and the practitioner. In recent years, non-invasive approaches based on the measurement of several blood biomarkers have been validated and are widely used in human medicine. A recent study in dogs has aimed to build a non-invasive biological test to diagnose and evaluate liver fibrosis in dogs*

**Key words:** chronic hepatitis, fibrosis, dog

(1) ONLYVET service de médecine interne 7 rue Jean Zay 69800 St Priest. Courriel : p.lecoindre@onlyvet.fr

(2) BIOMNIS 19 Av Tony Garnier 69007 Lyon

(3) ONLYVET service de médecine interne 7 rue Jean Zay 69800 St Priest. Courriel : a.lecoindre@onlyvet.fr

(4) OLLIOLIS, Quartier Lagoubran, 414a Chemin des Canniers 83190 Ollioules"



## INTRODUCTION

La fibrose est un mécanisme ubiquitaire cicatriciel secondaire à une inflammation chronique non maîtrisée. En pathologie hépatique, elle représente l'évolution de toutes les agressions chroniques, quelque que soit leur origine (virale, toxique, médicamenteuse, auto-immune...), aboutissant au stade de cirrhose, état associé à diverses complications (hypertension portale, insuffisance hépatocellulaire ou cancer) (Willard, 2010 ; Rothuisen, 2009 ; Watson *et al.* 2010 ; Cullen, 2015). L'examen histologique permet d'évaluer la gravité de la maladie en estimant l'étendue de la fibrose et le degré d'inflammation. Toutefois, les limites de la biopsie hépatique sont largement discutées depuis plusieurs années, notamment la variabilité liée à l'échantillonnage qui peut dépasser 30 %, le caractère invasif de la procédure et le caractère semi-quantitatif des scores utilisés, source de défaut de sensibilité (Gressner *et al.* 2008 ; Ellenberger *et al.* 2018 ; Rothuisen, 2006 ; Cole *et al.* 2002). Au cours des dernières années, des approches non invasives basées sur la mesure de plusieurs biomarqueurs sanguins ont été validées et sont largement utilisées en médecine humaine (Castera *et al.* 2010 ; Castera *et al.* 2014 ; Leroy *et al.* 2011). Une étude récente chez le chien en collaboration avec plusieurs centres de référés et le laboratoire Echosens a eu pour objectif de construire un test biologique non invasif permettant de diagnostiquer et d'évaluer la fibrose hépatique chez le chien (Menard *et al.* 2019).

## PHYSIOPATHOLOGIE DE LA FIBROSE HÉPATIQUE

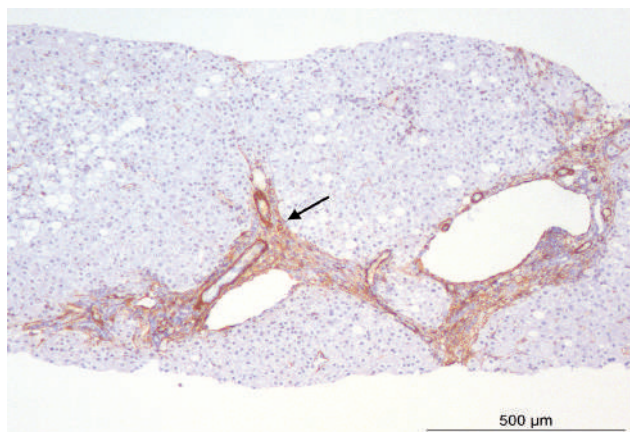
### La matrice extracellulaire du foie

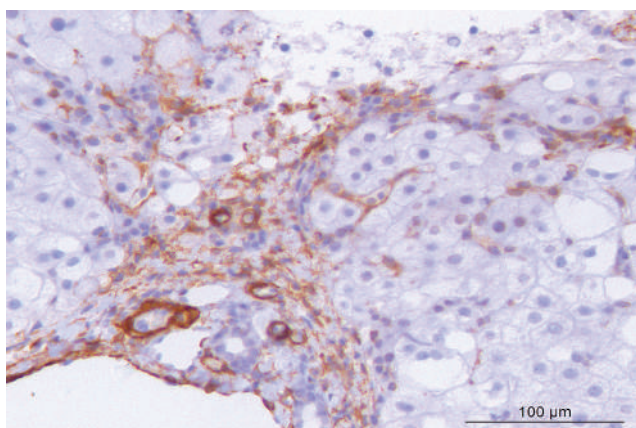
La matrice extracellulaire du foie (MEC) est le tissu d'échafaudage du foie normal. Elle est localisée dans la capsule, les espaces portes où elle s'organise en matrice interstitielle et en lame basale autour des vaisseaux et des canaux biliaires. Elle est également présente dans la paroi des veines centrolobulaires et dans l'espace de Disse où elle ne forme pas une lame basale continue. Elle provient de l'assemblage de macromolécules appartenant à plusieurs familles : les collagènes, les glycoprotéines (fibronectine, laminine), l'élastine, les protéoglycanes et les glycosaminoglycanes tel que l'acide hyaluronique (Cullen, 2015). La MEC est impliquée dans différents mécanismes : communication intercellulaire, adhésion des cellules, leur migration, leur différenciation, leur croissance. Dans le foie normal, il y existe un équilibre entre la fibrogenèse et la fibrolyse.

### Inflammation et fibrose

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 (Castera *et al.* 2014). La plupart du temps chez le chien, la cause n'est pas identifiée (Cullen *et al.* 2015). Suite à la destruction initiale de l'hépatocyte, des antigènes hépatocytaires (membranaires ou mitochondriaux) 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 ainsi activés reconnaissent les antigènes hépatocytaires comme agents étrangers et, par l'intermédiaire des cytokines, amplifient le processus de cytolysse hépatique. Secondairement à ce processus

de nécrose hépatocytaire, une réaction inflammatoire intense prend place. Un cercle vicieux, autoentretenu par les anticorps et les réactions cytotoxiques, cause une inflammation continue et une nécrose hépatocytaire (Eulenberg *et al.* 2018). L'inflammation est le stimulus majeur de la fibrose. Les cellules inflammatoires, les macrophages et les plaquettes vont libérer des médiateurs solubles (facteurs de croissance, *platelet-derived growth factor* ou PDGF, la fibronectine, le TGF $\beta$  et autres cytokines) qui ont un pouvoir mutagène sur les cellules fibrogéniques. Les cellules à l'origine de la fibrose hépatique sont constituées d'une population myofibroblastique hétérogène, d'origine intra- et extra-hépatique (Eulenberg *et al.* 2018). Chez l'homme il semble que la contribution de ces différentes populations à la fibrose semble varier au cours du temps et selon les étiologies (Gressner *et al.* 2008). Mais les cellules étoilées du foie ou cellules de Ito (CEFs) sont les mieux caractérisées en hépatologie humaine et sont les cellules fibrogéniques les plus actives (Vince *et al.* 2016 ; Friedman *et al.* 2008). Des études en microscopie électronique ont permis chez le chien de les identifier et elles présentent des similitudes importantes avec les cellules de ITO décrites chez l'homme (Neuman *et al.* 2012 ; Boiscler *et al.* 2001 ; Mekonnen *et al.* 2007 ; Peyron *et al.* 2015) (figures 1a et 1b). Ces cellules sont localisées dans l'espace sous-endothélial ou espace de Disse et leur fonction primaire dans un foie normal est de stocker les rétinoïdes. Lors d'inflammation hépatique, aiguë ou chronique, elles acquièrent un phénotype fibrogénique myofibroblastique et elles 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 (Eulenberg *et al.* 2018). L'augmentation de la contractilité des CEFs activées est due à l'expression de la protéine cytosquelettique et de l'actine des muscles lisses ( $\alpha$ SMA) (Friedman *et al.* 2008). Chez les chiens atteints d'une maladie hépatique chronique, une augmentation de l'expression de l' $\alpha$ SMA, dans les espaces périsinusoïdaux ainsi que dans les septa fibrotiques, a été démontrée (Boiscler *et al.* 2001 ; Mekonnen *et al.* 2007). Cette fibrose sinusoidale est également fréquemment observée lors d'hépatopathie de surcharge. Le stress oxydatif est un stimulus capital de l'activation des cellules fibrogéniques (Peyron *et al.* 2015) (figure 1). Activées, les cellules étoilées sécrètent un large répertoire de molécules matricielles enrichi en collagènes fibrillaires qui constituent les composants des septa fibreux (Eulenberg *et al.* 2018).





**Figures 1a (x 10) et 1b (x 40) :** Activation de cellules étoilées marquées par immunohistochimie (flèche) en utilisant un anticorps alpha d'actine du muscle lisse ( $\alpha$ -SMA)

### Conséquence de la fibrose hépatique

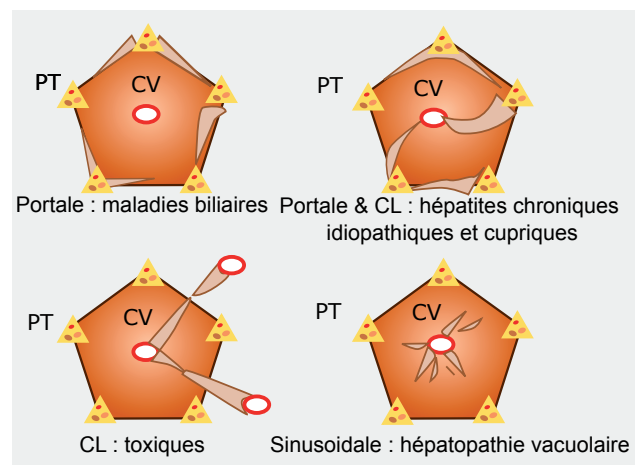
Le remplacement progressif du parenchyme hépatique normal par un tissu collagénique entraîne une perte de la capacité fonctionnelle hépatique. La fibrose septale conduit à l'apparition de ponts avec les espaces portes ou les régions centrolobulaires adjacentes pour isoler les lobules hépatiques et conduire, à terme, à la cirrhose nodulaire irréversible, source de morbidité et de mortalité importantes. Il existe deux types de cirrhose : une micronodulaire qui semble plus fréquente dans les hépatites par surcharge en cuivre, et une macronodulaire, observée plutôt dans les hépatites chroniques idiopathiques bien que fréquemment, ces deux formes peuvent cohabiter dans un même organe malade. La fibrose péri-sinusoidale, moins visible, réalise une véritable néo-membrane basale qui isole les hépatocytes des capillaires sinusoides et perturbe les échanges entre le compartiment vasculaire et les hépatocytes tout en participant à l'installation progressive d'une hypertension portale. Cette néo-membrane est également la conséquence 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 (Eulenberg *et al.* 2018). Une persistance d'une hypertension portale va conduire à des changements hémodynamiques importants caractérisés par une séquestration du sang splanchnique, une hypotension artérielle et l'activation des récepteurs volumiques avec mise en jeu du système rénine-angiotensine, entraînant une rétention sodée et l'apparition d'ascite. Des shunts portos-systémiques intra et extra-hépatiques se forment, diminuant encore l'élimination hépatique des métabolites endogènes (Rothuisen, 2009). Une dérivation porto-systémique entraîne souvent une encéphalopathie hépatique, un métabolisme anormal de l'ammoniac agissant en synergie avec divers autres facteurs, tels que les neurostéroïdes et les médiateurs inflammatoires, pour provoquer un gonflement des astrocytes et un dysfonctionnement neurologique (Rothuisen, 2009). L'hypergastrinémie ne semble pas être fréquente chez les chiens atteints de fibrose hépatique extensive mais l'hyperacidité gastrique et un déficit de la barrière muqueuse sont fréquemment responsables d'ulcérations digestives (Stanton *et al.* 1989). Le

syndrome hépatorénal et la péritonite bactérienne spontanée sont d'autres complications de l'hypertension portale chez l'homme. Le syndrome hépatorénal n'est pas décrit chez le chien mais il peut développer une péritonite bactérienne spontanée en association avec une hypertension portale (Culp *et al.* 2009). L'extension d'une fibrose hépatique peut avoir des conséquences sur la synthèse de certains facteurs de la coagulation. On pensait traditionnellement que les chiens atteints d'une maladie du foie étaient hypocoagulables parce qu'ils pouvaient avoir des temps de coagulation prolongés (prothrombine et thromboplastine partielle activée), une hypofibrinogénémie et une thrombocytémie légère à modérée (Shih *et al.* 2007 ; Fry *et al.* 2017). Dans une étude récente (Fry *et al.* 2017), les résultats de thromboélastographie étaient variables pour les chiens atteints d'hépatite chronique. Dans cette étude portant sur 21 chiens, 5 étaient hypocoagulables, 9 normocoagulables et 7 hypercoagulables. Une étude récente rapportant 33 cas de thrombose de la veine porte a par ailleurs montré que tous ces chiens présentaient une hépatopathie associée. Cet état d'hypercoagulabilité et le rôle de la thrombine chez le patient cirrhotique est bien décrit chez l'homme (Respass *et al.* 2011 ; Prins *et al.* 2010 ; Duplantier *et al.* 2004).

### PRINCIPALES HÉPATOPATHIES ASSOCIÉES À UNE FIBROSE HÉPATIQUE CHEZ LE CHIEN

La cause la plus fréquente de fibrose hépatique chez le chien est l'hépatite chronique (HC), caractérisée histologiquement par une apoptose ou une nécrose des hépatocytes, une inflammation, un infiltrat de cellules mononucléées et une fibrose. Dans 36% des cas, une accumulation intrahépatocytaire de cuivre est la cause de l'hépatite chronique mais dans 60% des cas l'inflammation est idiopathique (Poldervaart *et al.* 2009 ; Smedley *et al.* 2009 ; Dirksen 2017 ; Bexfield, 2017). L'hépatite granulomateuse est une forme rare d'hépatite chronique chez le chien et peut résulter de maladies infectieuses telles que la schistosomiase, l'histoplasmosse, l'infestation à *Angiostrongylus vasorum*, la leishmaniose, ou associée à un lymphome et une histiocytose maligne. La fibrose associée à ces hépatites chroniques cupriques ou idiopathiques est une fibrose extensive portale et centrolobulaire. L'hépatite disséquante lobulaire est un type distinct d'HC qui survient généralement (mais pas toujours) chez les jeunes chiens âgés en moyenne de 2 ans. Elle a été décrite dans un certain nombre de races, notamment le caniche standard, le rottweiler, le berger allemand, le golden retriever et le cocker américain et se caractérise par l'apparition d'une fibrose septale disséquante essentiellement composée de fibres de réticuline (collagène de type III) (Watson *et al.* 2010). L'obstruction chronique des voies biliaires extra-hépatiques peut entraîner secondairement une fibrose péricanaliculaire, probablement à cause de la prolifération des myofibroblastes portaux. Les causes de l'obstruction des voies biliaires extra-hépatiques chez le chien sont notamment les tumeurs du pancréas ou des voies biliaires, les cholangites chroniques ou une cholélithiase. La fibrose consécutive à une affection biliaire peut évoluer vers une fibrose pontante porte et peut se compliquer dans certains cas chroniques d'une cirrhose (Eulenberg *et al.* 2018). La fibrose hépatique congénitale se caractérise par une fibrose pontante porto-portale. Cette maladie rare a été décrite dans une série de 30

chiens de race Boxer (Pillai *et al.* 2016). Les maladies de surcharge hépatique souvent désignées sous les termes d'hépatopathie vacuolaire peuvent se compliquer d'une fibrose. Le modèle le mieux connu aujourd'hui est l'hépatopathie vacuolaire progressive du Scottish terrier. Une étude a montré qu'une fibrose apparaît très précocement au cours de l'évolution de la maladie et près de 20% des cas évoluent vers une cirrhose ou une hyperplasie nodulaire régénérative (Peyron *et al.* 2015). La fibrose est dans les premiers stades une fibrose périsinusoidale et évoluer vers une fibrose septale à point de départ centrolobulaire (figure 2).



**Figure 2** : Les différents types de fibrose chez le chien en fonction de l'affection hépatique considérée (CL : centrolobulaire)

## POURQUOI ÉVALUER LA FIBROSE HÉPATIQUE

Le développement de la fibrose hépatique est une étape importante dans la progression de nombreuses maladies du foie et il a été prouvé que ses conséquences sur le pronostic étaient importantes chez l'homme comme chez le chien (Rothuisen, 2009). La prévalence réelle de la fibrose hépatique chez le chien n'est pas connue. Cependant, des études nécropsiques ont constaté que plus de 10% des chiens autopsiés (sains ou atteints de maladies hépatiques ou extra-hépatiques) présentaient des modifications histologiques compatibles avec une hépatite chronique, maladie pour laquelle la fibrose hépatique est une caractéristique déterminante. La connaissance et la compréhension des mécanismes physiopathologiques permettent de comprendre pourquoi une évaluation de la fibrose hépatique est essentielle dans la prise en charge d'une hépatopathie. L'intérêt du dépistage de la fibrose est multiple car il permet :

1. D'évaluer le pronostic (le stade de fibrose est corrélé au pronostic de l'hépatopathie).
2. De permettre dans certaines affections d'adapter la surveillance ou le traitement (définir une surveillance simple d'une hépatopathie en l'absence de fibrose ; débuter un traitement au cours d'une hépatopathie compliquée d'une fibrose modérée ou sévère).
3. D'évaluer la réponse à un traitement (la fibrose est réversible jusqu'à un certain stade, et il existe de nombreux médicaments inhibant cette fibrogénèse, stimulant les collagénases et permettant une certaine réversibilité de cette fibrose).
4. De mettre en place la surveillance d'une fibrose avancée pour prévenir ses complications et le passage à une cirrhose.

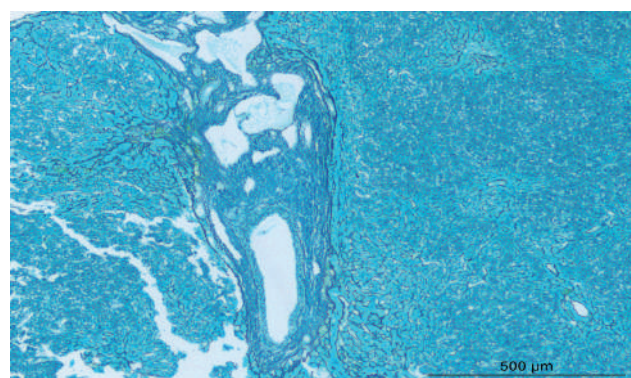
## COMMENT ÉVALUER LA FIBROSE

### Échographie

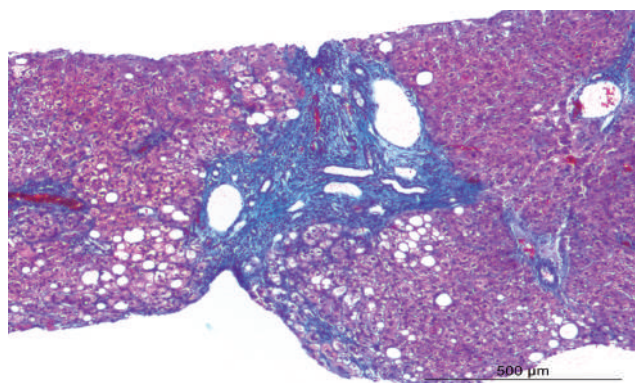
L'échographie hépatique chez les chiens atteints d'hépatite chronique peut, dans certains cas, révéler des modifications importantes de la taille du foie, de sa surface, de son écho-génicité et de son échostructure. La taille peut être augmentée mais est plus fréquemment diminuée. Des irrégularités de surface et de structure, avec l'apparition de nodules, sont observées dans des formes très chroniques et compatibles avec une évolution vers une cirrhose. Toutefois, plus de la moitié des chiens atteints d'hépatite chronique ne montrent pas de modifications des critères échographiques décrits plus haut. Toutefois, l'échographie est souvent plus sensible que l'examen clinique pour révéler une ascite débutante.

### Histologie

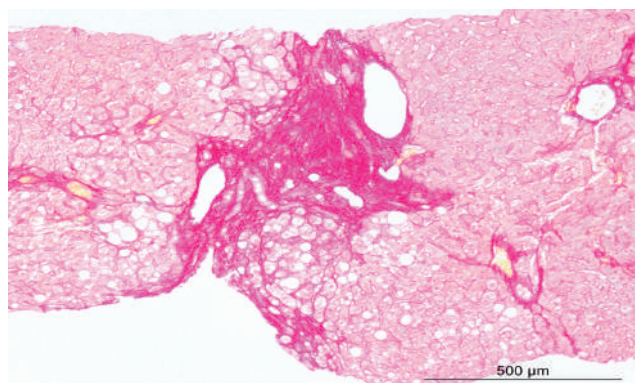
La clinique, la biologie ou l'échographie ne permettent généralement pas de confirmer l'existence d'une hépatite chronique et d'une fibrose, sauf dans les cas d'affections très évoluées au stade de cirrhose. La biopsie hépatique est incontournable pour établir un diagnostic fiable et un pronostic, mais il existe des variations importantes d'interprétation des images histologiques. La WSAVA (World Small Animal Veterinary Association) a réuni un groupe d'experts internationaux afin de convenir d'une terminologie, d'une démarche diagnostique et d'une interprétation histologique consensuelles. Les recommandations de ce groupe d'étude ont été publiées (Cole *et al.* 2002 ; Rothuisen, 2006). Les images histologiques les plus fréquemment associées à une hépatite chronique incluent un degré variable d'apoptose, de nécrose hépatocytaire, un infiltrat inflammatoire mixte, de la fibrose, une hyperplasie biliaire (prolifération ductulaire) et des signes de régénération (nodules). Parce que ces anomalies histologiques peuvent être présentes dans les différents types d'hépatite chronique, il peut être difficile d'atteindre un diagnostic étiologique sur la base d'un examen de routine des biopsies. L'appréciation de l'importance de la fibrose est souvent difficile en raison de fragments biopsiques de petite taille, de la répartition irrégulière de la fibrose dans le foie et de l'absence en médecine vétérinaire de scores histologiques semi-quantitatifs - type score de Knodell ou Metavir - utilisés en médecine humaine. Des colorations spéciales sont classiquement utilisées pour mettre en évidence cette fibrose (figures 3a, 3b, 3c).



**Figure 3a** : Fibrose hépatique mise en évidence par trois colorations histochimiques complémentaires (x 10) : Réticuline



**Figure 3b** : Fibrose hépatique mise en évidence par trois colorations histochimiques complémentaires (x 10) : Trichrome de Masson



**Figure 3c** : Fibrose hépatique mise en évidence par trois colorations histochimiques complémentaires (x 10) : Rouge de picrosirius

Le développement de scores d'évaluation histologique de cette fibrose (type Metavir), l'utilisation plus systématique de colorations spéciales, seront certainement dans l'avenir d'une aide précieuse pour déterminer le stade évolutif de la maladie et adapter le schéma thérapeutique. On peut se poser la question du type de biopsie à réaliser pour évaluer au mieux la fibrose hépatique (biopsies échoguidées au « Tru-Cut » ou biopsies au forceps sous coelioscopie). Il semblerait d'après nos premiers résultats que les biopsies réalisées lors d'une laparoscopie permettent une meilleure évaluation ce qui a été confirmé dans plusieurs études. Toutefois, nous avons comparé les biopsies réalisées à l'aide des forceps utilisés en coelioscopie qui prélèvent du tissu hépatique assez superficiel et des biopsies au « Tru-cut » dirigées lors de la réalisation de la coelioscopie et il semblerait que l'intensité de la fibrose en périphérie ne soit pas identique à celle de la MEC profonde d'où la recommandation de réaliser ces deux types de biopsies en coelioscopie pour évaluer plus sûrement l'intensité de cette fibrose (Cole *et al.* 2002).

En conclusion, les limites de la biopsie hépatique prennent ici toute leur importance, notamment la variabilité liée à l'échantillonnage qui peut dépasser 30 % (Cole *et al.* 2002 ; Lidbury *et al.* 2017), le caractère invasif qui limite la réalisation et la répétition de la procédure et le caractère semi-quantitatif des scores utilisés, source de défaut de sensibilité.

### Autres méthodes d'évaluation de la fibrose hépatique utilisées chez l'homme

Chez l'homme, les moyens diagnostiques de la fibrose hépatique ont évolué au cours du temps. La ponction biopsie hépatique a longtemps été le *gold standard*. Son caractère invasif, sa morbidité et sa mortalité non négligeables, et les erreurs possibles d'évaluation liées à la répartition irrégulière de la fibrose, ont été les principaux arguments pour le développement de méthodes non invasives d'évaluation de la fibrose hépatique. Le marqueur idéal devrait répondre aux critères suivants : spécifique du foie ; indépendant des anomalies métaboliques, et peu influencé par les affections extrahépatiques, la fonction rénale et l'excrétion biliaire ; facile à réaliser et reproductible ; suffisamment sensible pour permettre de suivre l'évolution de la fibrose ; performant quel que soit le stade de fibrose. L'attention s'est portée sur des marqueurs biologiques directs (propeptide N-terminal du procollagène de type III ou PIIINP, TIMP1, TGF $\beta$ , YKL40, laminine, collagène de type IV, MMP) ou indirects de la fibrose. Utilisés seuls, la plupart de ces marqueurs ont des performances qui ne permettent pas leur développement en pratique clinique courante. Quelques-uns ont toutefois une performance acceptable pour le diagnostic non invasif de cirrhose (acide hyaluronique, taux de prothrombine) (Castera *et al.* 2014 ; Leroy *et al.* 2014). Dans le domaine de l'hépatite chronique C, divers tests biologiques ont été développés parmi lesquels le Fibrotest® validé également dans d'autres domaines tels que les maladies alcooliques du foie. L'élastométrie impulsionnelle ultrasonore (Fibroscan®) est une nouvelle approche d'évaluation de la fibrose hépatique. Nous avons réalisé une évaluation de cette technique chez le chien mais nos résultats ont montré les difficultés d'interprétation qui sont directement liées aux variations inter espèces de la taille et du positionnement du foie (Oudry *et al.* 2011).

### UN NOUVEAU TEST BIOLOGIQUE NON INVASIF D'ÉVALUATION DE LA FIBROSE HÉPATIQUE CHEZ LE CHIEN

De nombreuses affections hépatiques évoluent selon un mode chronique et restent longtemps asymptomatiques. Le diagnostic d'une hépatopathie lorsque l'animal est clinique (ictère, ascite, troubles neurologiques) est peu intéressant car le temps de survie de l'animal à ce stade et l'efficacité des traitements sont très réduits. Il est donc essentiel de diagnostiquer une hépatopathie à des stades précoces au cours desquels les traitements se révéleront beaucoup plus efficaces. Malheureusement, le manque de sensibilité et de spécificité du profil enzymatique hépatique la mauvaise sensibilité de l'examen échographique hépatique, le caractère invasif d'une biopsie hépatique retardent souvent ce diagnostic. L'objectif principal de l'étude qui a été réalisée en collaboration avec plusieurs centres de référés et le laboratoire Echosens, est de construire un score sanguin selon un algorithme mathématique permettant de diagnostiquer et d'évaluer la fibrose hépatique chez le chien et de fournir au praticien un outil non invasif lui permettant d'être plus précis dans son approche diagnostique d'une hépatopathie et dans sa décision de proposer un acte biopsique (Menard *et al.* 2019). Ce score combine le dosage dans le sang de paramètres sanguins

marqueurs de cytolysse ou de fonctionnement hépatique et de marqueurs indirects de fibrose. L'hypothèse de travail était donc la suivante : « une combinaison de plusieurs marqueurs avec l'obtention de scores composites via un algorithme permettrait d'établir un test diagnostique dont la sensibilité et la spécificité seraient plus élevées pour détecter la fibrose hépatique que les marqueurs pris individuellement ». Quatre-vingt-seize chiens adultes, dont six chiens témoins ont été recrutés de manière prospective. Ils présentaient un profil enzymatique anormal, une absence de lésions focales ou une cholestase extra-hépatique lors de l'examen échographique, une absence de maladie intercurrente ayant pu entraîner une induction enzymatique. Tous les chiens ont subi des biopsies du foie (sous guidage échographique et/ou sous coelioscopie) et une collecte de sang (sérum). L'étendue et la répartition de la fibrose ont été évalués selon un système de notation histologique établi et la quantité de collagène a été mesurée par analyse morphométrique (Lidbury *et al.* 2017 ; Menard *et al.* 2019). La distribution de la trame collagénique, le caractère lâche ou dense et l'intensité de cette trame ont été évalués. La fibrose a été gradée en 5 stades : F0 = pas de fibrose, F1 = fibrose portale, F2 = fibrose portale modérée avec pontage minimal, F3 = fibrose de pontage présente dans toutes les différentes zones du lobule hépatique, et F4 = cirrhose (c'est-à-dire une fibrose nodulaire sévère). Les résultats des examens histologiques ont montré que 37,5% des chiens présentaient une fibrose significative égale ou supérieure à un stade F2. Une première étude univariable a permis de montrer qu'aucun paramètre sanguin ne montre des performances suffisantes pour diagnostiquer ou évaluer une fibrose hépatique (Menard *et al.* 2019).

Le test proposé utilisant une combinaison de plusieurs biomarqueurs hépatiques a permis de détecter une fibrose hépatique significative avec un AUROC (*area under the receiver operating characteristic*) de 0,80 (Se = 80% ; Sp = 70%) et une précision diagnostique de 93,3% pour un stade de fibrose  $\geq$ F2. Ce score semble suffisamment sensible et spécifique pour aider le vétérinaire dans sa démarche diagnostique et dans l'évaluation de la gravité de la maladie hépatique afin de l'orienter si nécessaire vers la réalisation d'une biopsie pour déterminer l'étiologie de la maladie et choisir le traitement à prescrire. Il permet actuellement de diagnostiquer les fibroses réticulées correspondant à un stade équivalent Metavir F $\geq$ 2. Actuellement, ce test n'est pas assez sensible pour différencier un stade F3 d'un stade F4.

## CONCLUSION

L'intérêt du dépistage de la fibrose est multiple dans l'évaluation des maladies hépatiques chez le chien. La ponction biopsie hépatique reste le *gold standard*. Mais son caractère invasif, sa morbidité et sa mortalité non négligeables, et les erreurs possibles d'évaluation liées à la répartition irrégulière de la fibrose, sont les principaux arguments pour le développement de méthodes non invasives d'évaluation de la fibrose hépatique.

## CONFLITS D'INTÉRÊT

Le Dr Patrick Lecoindre était responsable scientifique de l'étude réalisée conjointement avec le laboratoire Echosens.

## BIBLIOGRAPHIE

- Bexfield N. Canine idiopathic chronic hepatitis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2017; 47: 645-663.
- Boisclair J, Dore M, Beauchamp G, Chouinard, Girard C. Characterization of the inflammatory infiltrate in canine chronic hepatitis. *Vet Pathol.* 2001; 38:628-635.
- Castera L, Sebastiani G, Le Bail B, de Ledinghen V, Couzigou P, Alberti A. Prospective comparison of two algorithms combining non-invasive methods for staging liver fibrosis in chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2010;52:191-198.
- Castera L. Hepatitis B: are non-invasive markers of liver fibrosis reliable? *Liver Int* 2014;34 (Suppl 1): S91-S96.
- Cole TL, Center SA, Flood SN, Rowland PH, Valentine BA, Warner KL, Erb HN. Diagnostic comparison of needle and wedge biopsy specimens of the liver in dogs and cats. *J Am Vet Med Assoc* 2002;220:1483-1490.
- Culp WT, Zeldis TE, Reese MS, Drobotz KJ. Primary bacterial peritonitis in dogs and cats: 24 cases (1990-2006). *J Am Vet Med Assoc* 2009;234:906-913.
- Dirksen K & Fieten H. Canine copper-associated hepatitis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2017;47:631-644.
- Duplantier JG, Dubuisson L, Senant N, Freyburger G, Laurendeau I, Herbert JM, Desmoulière A, Rosenbaum J. A role for thrombin in liver fibrosis. *Gut* 2004;53:1682-1687.
- Eulenberg VM & Lidbury JA. Hepatic fibrosis in dogs. *J Vet Intern Med* 2018;32:26-41
- Friedman SL. Hepatic stellate cells: Protean, multifunctional, and enigmatic cells of the liver. *Physiol Rev* 2008;88:125-172.
- Fry W, Lester C, Etedali NM, Shaw S, DeLaforcade A, Webster CR. Thromboelastography in dogs with chronic hepatopathies. *J Vet Intern Med.* 2017;31:419-426.
- Gressner OA, Rizk MS, Kovalenko E, Weiskirchen R, Gressner AM. Changing the pathogenetic roadmap of liver fibrosis? Where did it start; where will it go? *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23:1024-1035.
- Menard M, Lecoindre A, Cadore JL, Chevallier M, Pagnon A, Hernandez J, Leal RO, Hugonnard M, Miette V, Destro M, Rannou B, Benckekroun G, Lecoindre P. A new combination of blood parameters for the accurate non-invasive diagnosis of liver fibrosis in dogs. *J Vet Diagn Invest.* 2019 Sep;31(5):665-673.
- Leroy V, Sturm N, Faure P, Trocme C, Marlu A, Hilleret MN, Morel F, Zarski JP. Prospective evaluation of Fibrotest®, FibroMeter®, and Hepascore® for staging liver fibrosis in chronic hepatitis B: comparison with hepatitis C. *J Hepatol* 2014;61:28-34.
- Lidbury, Rodrigues Hoffmann A, Ivanek R, Cullen JM, Porter BF, Oliveira F, Van Winkle TJ, Grinwis GC, Sucholdolski JS, Steiner JM. Interobserver agreement using histological scoring of the canine liver. *J Vet Intern Med* 2017;31:778-783
- Mazaki-Tovi M, Segev G, Yas-Natan E, Lavy E. Serum gastrin concentrations in dogs with liver disorders. *Vet Rec* 2012;171:19.



- Mekonnen GA, Ijzer J, Nederbragt H. Tenascin-C in chronic canine hepatitis: Immunohistochemical localization and correlation with necro-inflammatory activity, fibrotic stage, and expression of alpha-smooth muscle actin, cytokeratin 7, and CD3+ cells. *Vet Pathol* 2007;44:803-813.
- Neumann S & Kaup FJ.  $\alpha$ -SMA and Ki-67 immunohistochemistry as indicators for the fibrotic remodeling process in the liver of dogs. *J Adv Vet Anim Res* 2012;2:42-47
- Peyron C., Lecoindre P., Chevallier M., Guerret S., Pagnon, A. Vacuolar hepatopathy in 43 French Scottish terriers. A morphological study. *Revue Méd Vét*, 2015, 166, 7-8, 176-184
- Oudry J. Miette G, Lecoindre P. Evaluation of hepatic diseases in in vivo dogs with Fibroscan® device: a feasibility study. Congress ECVIM 2011 <https://www.ecvimcongress.org>
- Pillai S, Center SA, McDonough SP, Demarco J, Pintar J, Henderson AK, Cooper J, Bolton T, Sharpe K, Hill S, Benedict AG, Haviland R. Ductal plate malformation in the liver of Boxer dogs: Clinical and histological features. *Vet Pathol* 2016;53:602-613.
- Poldervaart JH, Favier RP, Penning LC, van den Ingh TS, Rothuizen J. Primary hepatitis in dogs: A retrospective review (2002-2006). *J Vet Intern Med* 2009;23:72-80.
- Prins M, Schellens CJ, van Leeuwen MW, Rothuizen J, Teske E. Coagulation disorders in dogs with hepatic disease. *Vet J* 2010;185:163-168.
- Respass M, O'Toole TE, Taeymans O, Rogers CL, Johnston A, Webster CR. Portal vein thrombosis in 33 dogs: 1998-2011. *J Vet Intern Med* 2012;26:230-237.
- Rothuizen J. Sampling and handling of liver tissue. In: Standards for clinical and histological Diagnosis of Canine and Feline Liver Diseases. WSAVA editors. Philadelphia, PA: Saunders Elsevier, 2006, pp 5-14.
- Rothuizen J. Important clinical syndromes associated with liver disease. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2009;39:419-437.
- Stanton ME, Bright RM. Gastroduodenal ulceration in dogs. Retrospective study of 43 cases and literature review. *J Vet Intern Med* 1989;3:238-244
- Shih JL, Keating JH, Freeman LM, Webster CR. Chronic hepatitis in Labrador retrievers: Clinical presentation and prognostic factors. *J Vet Intern Med* 2007;21:33-39.
- Smedley R, Mullaney T, Rumbleha W. Copper-associated hepatitis in Labrador retrievers. *Vet Pathol* 2009;46:484-490.
- Vince AR, Hayes MA, Jefferson BJ, Stalker MJ. Sinusoidal endothelial cell and hepatic stellate cell phenotype correlates with stage of fibrosis in chronic liver disease in dogs. *J Vet Diagn Invest* 2016;28:498-505.
- Watson PJ, Roulois AJ, Scase TJ, Irvine R, Herrtage ME. Prevalence of hepatic lesions at post-mortem examination in dogs and association with pancreatitis. *J Small Anim Pract* 2010;51:566-572.