

L'immunohistochimie en anatomie pathologique ophtalmologique : intérêt et limites

M. Pluot (1), V. Cahn (1), A. Ducasse (2)

(1) Laboratoire Central d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques.

(2) Service d'Ophtalmologie, CHR de Reims, Reims.

Communication orale présentée lors du 110^e Congrès de la Société Française d'Ophtalmologie en mai 2004.

Correspondance : M. Pluot, Laboratoire Central d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques, Hôpital Robert Debré, CHU de Reims, Avenue du Général Koenig, 51092 Reims CEDEX. E-mail : mpluot@chu-reims.fr

Reçu le 5 septembre 2005. Accepté le 29 juin 2006.

Immunohistochemistry in ophthalmic pathology: applications and limitations

M. Pluot, V. Cahn, A. Ducasse

J. Fr. Ophtalmol., 2006; 29, 8: 946-956

We evaluate the applications of immunohistochemistry (IHC) in ophthalmic cytology and pathology. The principles of the techniques used in IHC are described. Recent improvements are highlighted, such as the polymeric labeling two-step method, tyramine signal amplification, rabbit monoclonal antibodies, and labeled nanocrystals. The results of the immunohistochemical methods are collected in bacterial and viral diseases and in tumors of the eye and its adnexa, the pathology of which varies greatly. The results in lymphomas, melanomas, and palpebral tumors were more details for practical reasons. There are widespread applications of IHC in ophthalmic pathology, extending from viral ocular and general diseases to the diagnosis of tumors. In some conditions, this technique needs to be associated with molecular biology investigations. Automation helps establish standard protocols, but IHC is a multistep diagnostic method requiring proper selection, fixation, processing, and staining procedures. From a general standpoint, good communication between pathologists and ophthalmologists is the best guarantee of satisfying results.

Key-words: Ophthalmology, immunohistochemistry, cytology, pathology, viruses and bacteria, tumors.

L'immunohistochimie en anatomie pathologique ophtalmologique : intérêt et limites

Nous faisons un point sur l'apport actuel de l'immunohistochimie au diagnostic cytologique et histopathologique en ophtalmologie. Les principes des techniques immunohistochimiques par les méthodes classiques, directes et indirectes, sont expliqués. Les modifications récentes, qui peuvent améliorer les performances de ces techniques, sont indiquées : amplification du signal par les polymères, amplification par la tyramine, anticorps monoclonaux de lapin, application des nanotechnologies avec des nanocristaux semi-conducteurs couplés aux anticorps. Les données apportées par l'immunohistochimie sont indiquées dans deux domaines principaux de la pathologie : les maladies bactériennes et surtout virales, et les tumeurs de la rétine, du nerf optique, de l'uvée, des voies lacrymales, de l'orbite, de la conjonctive et des paupières. Dans ce large ensemble de lésions particulièrement diverses, l'immunohistochimie est très utile, qu'il s'agisse de maladies rares ou beaucoup plus fréquentes. L'immunohistochimie des lymphomes, des mélanomes dans leurs différentes localisations, et des tumeurs très variées des paupières est plus détaillée, dans un but pratique. Les champs d'application de l'immunohistochimie sont très vastes en pathologie ophtalmologique : pathologies virales oculaires et extra-oculaires, diagnostic positif et différentiel des tumeurs. Dans certains cas, elle doit être associée à des méthodes de biologie moléculaire. Même si les automates apportent une standardisation très utile dans le déroulement des différentes étapes techniques, les limites restent représentées par une méthodologie rigoureuse depuis la réception du prélèvement jusqu'à l'interprétation des préparations. Une bonne communication entre ophtalmologistes et anatopathologistes est le meilleur garant des résultats.

Mots-clés : Ophtalmologie, immunohistochimie, cytologie, histopathologie, virus et bactéries, tumeurs.

INTRODUCTION

L'immunohistochimie permet de localiser des antigènes dans les tissus et les cellules au moyen d'anticorps, la réaction antigène/anticorps pouvant être observée au microscope, et de mettre en évidence des protéines d'intérêt contribuant au diagnostic positif et différentiel, voire au pronostic, de nombreuses entités pathologiques infectieuses et tumorales. Le but de ce travail a été de tenter de faire un point sur l'intérêt et les limites de cette méthode appliquée en ophtalmologie, dont la pathologie est particulièrement riche et variée. La liste des applications en est par conséquent longue.

PRINCIPES DE L'IMMUNOHISTOCHIMIE

L'immunohistochimie est une méthode morphologique permettant de localiser des antigènes dans les tissus ou les cellules, par des anticorps (immunoglobulines) dirigés de façon spécifique contre ces antigènes, et rendus visibles au microscope par conjugaison avec des fluorochromes ou des enzymes donnant un signal coloré. Un antigène peut être défini comme toute substance induisant une réponse immunitaire spécifique, et comporte plusieurs épitopes (déterminants antigéniques). Les anticorps sont produits par des lymphocytes qui

deviennent des plasmocytes en stockant les immunoglobulines, qu'ils peuvent excréter. Les anticorps se lient spécifiquement aux antigènes qui ont déclenché leur production par les lymphocytes.

Les molécules d'immunoglobulines (Ig) sont constituées de deux chaînes légères (L) et de deux chaînes lourdes (H). Les chaînes légères sont de deux types (Kappa ou Lambda), les chaînes lourdes de cinq types : γ pour les IgG, α pour les IgA, μ pour les IgM, δ pour les IgD, et ϵ pour les IgE. Une molécule d'Ig comporte des régions constantes qui déterminent l'isotype, et des régions variables, dont l'extrémité interagit avec l'antigène.

La réaction antigène-anticorps est spécifique ; mais, un antigène peut comporter des épitopes en commun avec un autre antigène, pouvant être à l'origine de ce que l'on appelle une réaction croisée.

Les anticorps monoclonaux sont produits, le plus souvent chez la souris, par un seul clone de lymphocytes B (technique des hybridomes). Les anticorps polyclonaux sont un mélange d'anticorps obtenus en injectant l'antigène à un animal (lapin surtout, chèvre, mouton, porc) ; il s'agit d'un antisérum associant des anticorps pouvant reconnaître divers épitopes et des impuretés qui peuvent diminuer leur spécificité, mais être favorables à une grande sensibilité.

Dans la technique directe, l'anticorps est directement conjugué au système révélateur, une enzyme (peroxydase ou phosphatase alcaline), ou un fluorochrome (fig. 1). Les enzymes réagissent avec leur substrat en donnant un dépôt coloré sous forme d'un précipité insoluble, visible avec un microscope de laboratoire standard, l'immunofluorescence nécessitant un microscope à fluorescence.

Dans les techniques indirectes, les systèmes révélateurs sont uniquement enzymatiques et plusieurs étapes se succèdent :

– deux étapes : un 2^e anticorps (secondaire) se fixe sur l'anticorps primaire ; ce 2^e anticorps est couplé à de la biotine, qui se lie à des molécules d'avidine ou de streptavidine ; celles-ci peuvent fixer plusieurs molécules d'enzyme (fig. 2). Il existe des complexes préformés avidine-biotine-enzyme, par exemple le complexe ABC qui est très utilisé (fig. 3).

– trois étapes : dans la méthode PAP (peroxydase-antiperoxydase) (fig. 4), la troisième étape utilise un complexe de molécules d'enzyme peroxydase et d'anticorps antiperoxydase ; dans la méthode APAAP (phosphatase alcaline-antiphosphatase alcaline), l'enzyme est la phosphatase alcaline, évitant les difficultés causées par d'éventuelles activités peroxydasiques endogènes,

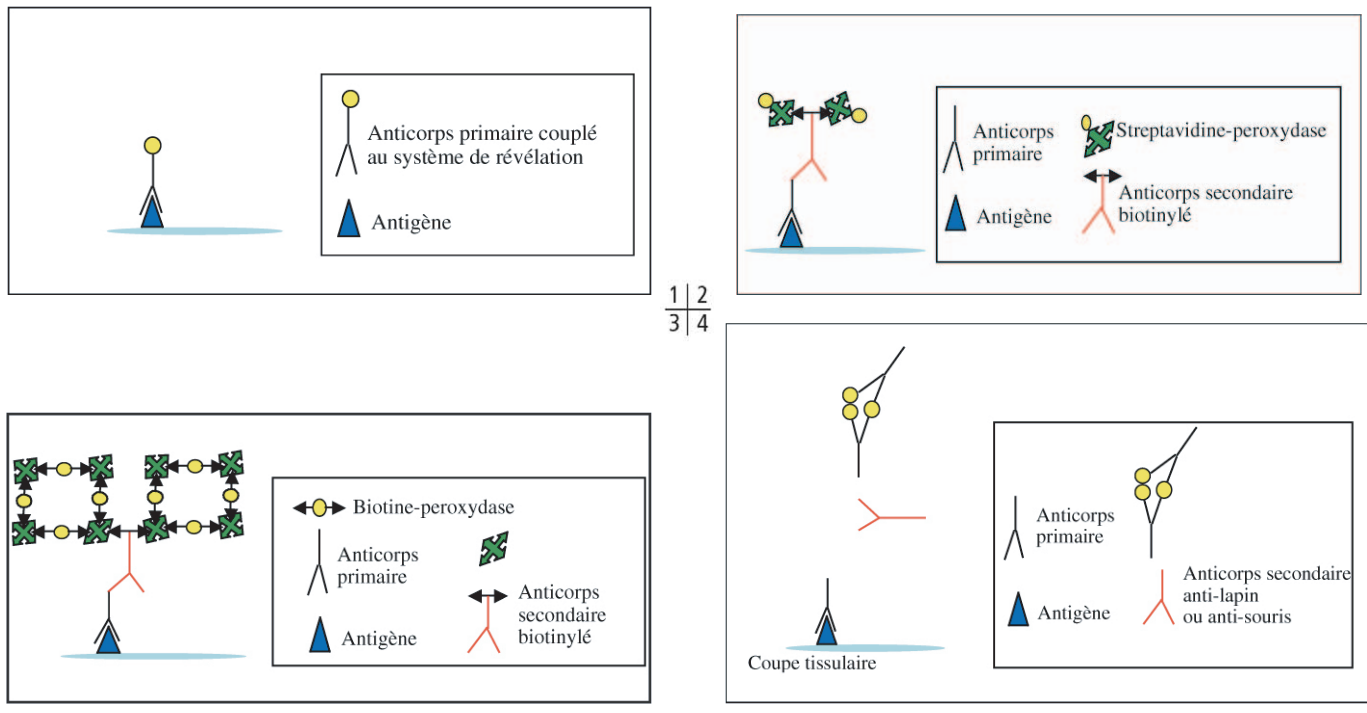


Figure 1 : Technique directe.

Figure 2 : Technique indirecte : la peroxydase est couplée à la streptavidine qui se fixe à la biotine de l'anticorps secondaire.

Figure 3 : Technique indirecte (ABC) : la peroxydase est couplée à deux biotines qui fixent deux avidines ; celles-ci fixent d'autres biotines-péroxydases et créent ainsi un complexe d'amplification. Un site de fixation libre d'une molécule d'avidine s'accroche à la biotine de l'anticorps secondaire.

Figure 4 : Technique indirecte (PAP) : la troisième étape utilise un complexe de molécules d'enzyme peroxydase et d'anticorps anti-peroxydase.

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/4025157>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/4025157>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)