

République Algérienne Démocratique et populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Blida1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie et Physiologie Cellulaire



Mémoire de fin d'études
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Option : Bio-signalisation Cellulaire et Moléculaire, Génétique du Cancer

Thème

*Etude des aspects cellulaires de l'hépatoblastome chez
l'enfant et la recherche de l'implication de l'Alpha-
foetoprotéine et β -caténine dans son diagnostic et son
pronostic*

Présenté par

M^{elle} **BENKHAOUA Meriem**

M^{elle} **TSOURIBEN TSOURI Aicha**

Devant les membres de jury :

Mme BOKRETA S.	Maitre assistante A à UB1	Présidente
Mme CHAKHMA A.	Maitre assistante A à UB1	Examinatrice
Mme SAADI L.	Maitre de conférence A à UB1	Promotrice
M ^{elle} TAKABAIT H.	Résidente au CHU Mustapha Bacha- Alger	Co-promotrice

Promotion 2016/2017

Remerciement

Louange à Dieu le Tout Puissant de nous avoir permis de réaliser dans de bonnes conditions ce modeste travail en fortifiant toute l'énergie dont il a bien voulu nous investir.

Nous tenons à exprimer notre respect et notre sincère reconnaissance à **docteur SAADI** qui en proposant ce thème de recherche, nous a offert l'opportunité de travailler au sein de l'équipe du Laboratoire.

Nous tenons à exprimer tout notre reconnaissance et notre profond respect pour notre co-promoteur **Mme TAKABAITE**, qui n'a ménagé aucun effort pour nous conseiller, nous orienter et nous guider malgré ses lourdes charges. Nous lui témoignons notre profonde gratitude et notre affectueuse reconnaissance.

Nous tenons également à présenter tous notre gratitude et nos remerciements aux membres de jury qui ont bien voulu consacrer leur précieux temps pour juger notre travail :

♦ **Mme BOKRETA**, Maitre assistante A à UB1 qui nous a fait l'honneur de présider ce jury.

♦ **Mme CHAKHMA**, Maitre assistante A à UB1 qui nous a fait l'honneur d'examiner ce travail. Nous tenons à lui exprimer notre profonde gratitude.

♦ **Mme BOUDEGZDAME**, Maitre assistante A à UB1 qui a bien accepté d'évaluer notre travail, et d'apporter ses critiques constructives.

Notre profond respect s'adresse également à l'ensemble des membres du laboratoire d'anatomie pathologique à l'hôpital Mustapha Bacha à Alger en particulier les professeurs **HANNACHIL** et **AMIR C.Z**, docteur **DAHALA**, les techniciennes du laboratoire **BETTIOUN**, **NAILS** et **BOUCHEWLA.M** qui nous ont aimablement et chaleureusement accueillis au sein de leur équipe. Sans oublier :

♦ Tous l'équipe d'immunohistochimie **DERMOUCHE F.Z**, **GALIS**, **BAKHOUDJ.N** et **GAID.D** pour ses conseils et pour les fructueuses discussions, ses encouragements et sa gentillesse. Et les archivistes **SEKHI D**, **LAGAB S**, et **HANSALI Y**.

Enfin nos remerciements vont à tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin afin de réaliser ce travail.

Dédicace

A mes très chers parents ...

Si j'utiliserai tous les mots de remerciements je n'arriverai pas à exprimer mes sentiments, ma reconnaissance et ma gratitude pour votre soutien, votre amour et vos prières qui m'ont régénéré tout au long de mes études et ma vie.

Vous avez pu supporter mon stress dans mes moments les plus difficiles, vous étiez à mes côtés dans toutes mes nuits blanches. J'espère que je serais toujours à la hauteur de vos espérances.

Ce travail est le fruit de vos efforts et vos sacrifices. Que dieu vous protège et vous accorde santé et longue vie.

A mes très chers grands-pères que Dieu les protège.

A mes très chers grands-mères décédées, La miséricorde de Dieu sur elles.

A ma sœur et à mon âme Hamida que Dieu la protège.

A mes très chères frères et sœurs : Mohamed, Salha, Zahia, Houria, Othman, Houcine, Sabah, Nora, Souhila et Rabah.

A mes adorables neveux et nièces : Imad, Siham, Younes, Abd El-baki, Ayman, Iman, Abd El-malak, Ishak, Abd El-rahim, Hadil, Alaa, sara, yassin, Adam, Sirine, Moad, Kawthar, Anas, Riad, Rania, Ikram, Hadjer, Lamia, Ilham, Sohaib et Batoul.

A mes beaux-frères et mes belles sœurs qui me sont chers.

A mes oncles, tantes, cousins et cousines.

Spécial dédicace à ma binôme et très chère amie Meriem, et à mon inspiration Karima que dieu vous protège et vous procure la joie et le bonheur et que notre amitié reste à jamais.

A toutes mes chères amis (es) avec qui j'ai des souvenirs inoubliables: Ibtissam, Hayat, Thameur, Thoraya, Fairouz, Houda, Lamia Fatma et Ahlem.

Tous ce qui m'aiment et que j'aime.

Tsouri Ben Tsouri Aicha



Dédicace

Je dédie le fruit de mes études à :

Mes très chers parents, je tiens à vous dire combien vous êtes chère à mon cœur, je voudrais vous remercier, d'avoir fait de moi ce que je suis aujourd'hui, pour les valeurs que vous avez si bien su m'inculquer, la gentillesse, le respect et le dévouement. Je suis si fière d'être votre fille.

A toi maman, tu m'a tellement donné aussi que je n'ai pas assez de mots pour t'exprimer, tout d'abord ma reconnaissance et ma plus profonde tendresse.

A toi papa, je veux dire que tu es l'homme que j'aime le plus au monde, je prie Dieu le tout puissant de vous garder au près de nous et de vous donner la santé et la force pour terminer jusqu'au bout.

A ma grand-mère maternelle que dieu nous la protège.

A mes frères et sœurs : Nacira, Khadidja, Mohamed, Marwane et Mezoura.

A ma nièce Alaà et mes neveux Abdellazize et Djalaledin.

A mon beau-frère Ibrahim.

A mes cousins et mes cousines.

Ma binôme et très chère amie Aicha, à qui je souhaite une vie pleine de bonheur et de succès, ainsi que pour sa famille

A toutes mes chères amies avec qui j'ai des souvenirs très agréables: Hayat, Baya, Aicha, Khadidja, Hayat et Thoraya, Fatma, Ahlem, Fairouz, Faiza, Houda, Lamia, Zahra et Naila

Ainsi que tous les étudiants et étudiantes de l'option BCM promotion 2017.

Tous ce qui m'aiment et que j'aime.

Meriem



RESUME

La meilleure compréhension de l'aspect morphologique et moléculaire de l'hépatoblastome est très importante pour diagnostiquer plus précisément la maladie, ainsi que pour développer des nouvelles approches thérapeutiques. Ce présent travail a pour objectif d'étudier les types histologiques de l'hépatoblastome et de rechercher d'une part la corrélation entre le taux sérique de l'Alpha-fœtoprotéine et son intensité selon les différents sous-types histologiques. D'autre part rechercher la localisation de la β -caténine et son intensité dans les différents sous-types histologiques.

Afin d'atteindre cet objectif, nous avons mené une étude sur 30 patients atteints d'hépatoblastome, dans une période de 8 mois, de février à septembre 2017. Nous avons utilisé les techniques Hématoxyline-éosine et immunohistochimie.

Les résultats obtenus démontrent que l'hépatoblastome est une tumeur rare survenant surtout chez le petit enfant (avant l'âge de 3 ans), avec une prédominance de sexe masculin.

Le dosage sérique d'Alpha-fœtoprotéine indique que son taux est élevé (<100 ng/mL) dans plus de 90% des cas de différentes classifications histologiques, tandis qu'il est faible dans les cas présentant une histologie indifférenciée à petites cellules. L'immunomarquage de cette molécule indique qu'il n'existe aucune corrélation entre son taux sérique au moment du diagnostic et son expression dans les tumeurs étudiés. L'immunomarquage de la β -caténine montre que cette molécule est exprimée dans la majorité des cas, ce qui indique son importance dans la tumorigénèse de l'hépatoblastome.

D'après ces résultats, nous pouvons conclure que le dosage sérique de l'Alpha-fœtoprotéine est un examen essentiel pour le diagnostic et le pronostic de l'hépatoblastome et que la β -caténine est un outil axillaire dans son diagnostic.

Mots clés : Hépatoblastome, β -caténine, Alpha-fœtoprotéine, Diagnostic, Immunomarquage, Types histologiques .

ABSTRACT

The best understanding of the morphological and molecular aspect of hepatoblastoma is very important in order to more accurately diagnose the disease and to develop new therapeutic approaches.

The objective of this work is to study the histological types of hepatoblastoma and to investigate the correlation between the serum alpha-fetoprotein level and its intensity according to different histological subtypes. On the other hand, we investigate the localization of β -catenin and its intensity in the different histological subtypes.

In order to achieve this goal, we conducted a study of 30 patients with hepatoblastoma, in a period of 8 months, from February to September 2017. We used Hematoxylin-Eosin and Immunohistochemistry techniques.

The results show that hepatoblastoma is a rare tumor occurring mainly among the young child (before the age of 3 years), with a male predominance.

The alpha-fetoprotein serum dosage indicates that it is high (<100 ng/mL) in more than 90% cases of different histological classifications, while it is low in cases with small cell differentiated histology. The immunolabeling of this molecule indicates that there is no correlation between the serum level at the time of diagnosis and its expression in the tumors studied. Immunolabelling of β -catenin shows that this molecule is expressed in the majority of cases, indicating its importance in the tumorigenesis of hepatoblastoma.

From these results, we can conclude that serum alpha-fetoprotein is an essential examination for the diagnosis and prognosis of hepatoblastoma and that β -catenin is a useful axillary in its diagnosis.

Key words: Hepatoblastoma, β -catenin, Alpha-fetoprotein, Diagnosis, Immunolabelling, Histological types.

ملخص

الفهم الأفضل للجانب المورفولوجي والجزئي من ورم أرومي كبدي مهم جدا من أجل تشخيص أكثر دقة للمرض وكذا تطوير مناهج علاجية جديدة. والهدف من هذا العمل هو دراسة الأنواع النسيجية للورم الأرومي الكبدي، والبحث من جهة عن العلاقة بين مستوى ألفا فيتو بروتين في الدم وكثافته وفقا للأنواع الفرعية النسيجية المختلفة، و من جهة اخرى البحث عن موقع البيتا كاتينين و كثافتها في مختلف الأنواع الفرعية النسيجية.

لتحقيق هذا الهدف، أجرينا دراسة من 30 مريضا مصاب بورم أرومي كبدي. في فترة قدرها 8 أشهر، من فيفري إلى سبتمبر 2017. وذلك باستخدام تقنية تلوين الهيماتوكسيلين ايوزين و الوسم المناعي.

أظهرت النتائج أن الورم الأرومي الكبدي هو ورم نادر يحدث أساسا عند الأطفال الصغار (قبل سن 3 سنوات)، حيث أن الغالبية من الذكور. يشير مستوى الألفا فيتو بروتين في المصل إلى أنه عالي (>100 نغ/مل) في أكثر من 90% من مختلف التصنيفات النسيجية ، غير أنها منخفضة في حالات الأنسجة غير متميزة الخلايا الصغيرة. يشير الوسم المناعي لهذا الجزء إلى أنه لا يوجد أي ارتباط بين مستواه في المصل وقت التشخيص وتعبيره في الأورام المدروسة. يظهر الوسم المناعي للبيتا كاتينين أنه يتم التعبير عن هذه الجزئية في غالبية الحالات السابق ذكرها، مما يشير إلى أهميتها في نشأة الأورام الكبدية. من خلال هذه النتائج، يمكننا أن نستنتج أن معدل الألفا فيتوبروتين في المصل فحص أساسي لتشخيص وتكهن الورم الأرومي الكبدي، وأن البيتا كاتينين هو وسيلة ثانوية في التشخيص.

الكلمات المفتاحية: ورم أرومي كبدي، بيتا كاتينين، ألفا فيتو بروتين، تشخيص، الوسم المناعي، أنواع النسيجية.

Liste des abréviations

AFP: Alpha-fœtoprotéine.

APC: Adenomatous polyposis coli.

BWR1A: Beck-with-Wiedemann-related gene 1A/ORCTL2, organic cation transporter-like2.

CHU: Centre hospitalier universitaire.

Dsh: Dishevelled.

FZD: Frizzled.

GSK3: Glycogène synthase kinase-3.

HB: Hépatoblastome.

HE: Hématoxyline-éosine.

hFLMPC: cellules progénitrices multipotentes hépatiques fœtales humaines.

IGF2: Insulin growth factor 2.

IHC: Immunohistochimie.

JAK: Janus Kinase.

LRP: Lipoprotein Receptor-related Protein.

MT: Macrotrabéculaire.

MYC: v-myc avian myelocytomatosis viral oncogene homolog.

PAF: Polypose Adénomateuse Familiale.

PBH: Ponction biopsie hépatique.

PLK1: Polo-like kinase-1.

PRETEXT: PRETreatment EXTent of disease.

SBW: Syndrome de Beckwith-Wiedemann.

SCU: indifférencié à petites cellules.

SOCS-1: Suppressors Of Cytokines Signalling.

STAT: Signal Transducer and Activator of Transcription.

TCF/LEF: T-Cell Factor/ Lymphoid Enhancer Factor.

TNM: Tumor, Node, Metastasis.

WNT: Wingless-type MMTV Integration site family member.

YAP: Yes-associated protein 1.

β -HCG: bêta hormone Chorionique Gonadotrope.

GLOSSAIRE

Hépatectomie : intervention chirurgicale consistant à retirer la totalité ou une partie d'un foie malade.

Hépatomégalie : augmentation anormale du volume du foie.

Ictère : coloration jaune de la peau, de la sclérotique (blanc de l'œil) et des muqueuses, due à l'accumulation, dans le sang, de la bilirubine (pigment dérivé de l'hémoglobine).

Imagerie par résonance magnétique (IRM) : une technique de diagnostic qui permet d'obtenir des coupes transversales d'organes et des structures de l'organisme.

L'anémie de Fanconi : est une maladie génétique rare du sang dans laquelle la moelle osseuse ne produit pas assez de cellules sanguines.

La polypose adénomateuse familiale (PAF) : est une affection héréditaire rare qui se manifeste par une polypose recto-colique familiale (apparition de centaines ou de milliers de polypes au niveau du côlon) et des tumeurs cutanées ou digestives.

L'ataxie télangiectasie : associe un déficit immunitaire mixte sévère - portant surtout sur l'immunité humorale - à une ataxie cérébelleuse progressive.

Segmentectomie : consiste à enlever un seul segment du foie.

Syndrome d'alcoolisme fœtal : est une affection associée avec la consommation alcoolique durant la grossesse, il provoque une variété de déficiences pour le bébé tant sur le plan mental et physique que celui du développement.

Syndrome de Beckwith-Wiedemann : une maladie génétique caractérisé par une croissance excessive et des malformations congénitales.

Syndrome de Li Fraumeni : affection rare du sujet jeune consistant en une prédisposition à diverses tumeurs.

Tomodensitométrie (TDM) : procédé radiologique utilisant les rayons X et permettent, in vivo, l'étude en coupe des différents tissus du corps humain.

Tumorectomie : intervention chirurgicale consistant à enlever une tumeur.

Liste des tableaux

Numéro	Titre	Page
Tableaux I	Tableau I : tableau récapitulatif de l'ensemble des cas d'hépatoblastome.	Annexe 8
Tableaux II	Répartition d'hépatoblastome selon le sexe.	Annexe 8
Tableaux III	répartition d'hépatoblastome selon l'âge chez les deux sexes.	Annexe 8
Tableaux IV	Répartition h'hépatoblastome selon le type histologique.	Annexe 8
Tableaux V	Composants épithéliaux de spécimens sélectionnés d'hépatoblastome.	Annexe 8
Tableaux VI	Hépatoblastome Mixte et ou sans composantes tératoïdes.	Annexe 8
Tableaux VII	Immunomarquage et taux sérique de l'AFP selon le sous-type histologique d'hépatoblastome.	30
Tableaux VIII	Immunomarquage de la β -caténine selon le sous-type histologique d'hépatoblastome.	34

Liste des figures

Figure	Titre	Page
Figure 1	Face diaphragmatique du foie.	3
Figure 2	Faces viscérales du foie.	3
Figure 3	Segments du foie humain et nomenclature chirurgicale actuelle des sections de foie.	4
Figure 4	Schéma de l'organisation histologique du lobule hépatique.	5
Figure 5	image macroscopique d'un hépatoblastome.	9
Figure 6	Représentation de la protéine β -caténine-1 avec ses domaines d'interaction protéique.	12
Figure 7	Voie canonique de Wnt / β -caténine.	13
Figure 8	Les étapes du développement normal du foie et de développement de HB.	14
Figure 9	Shéma de la technique immunohistochimique.	22
Figure 10	Répartition des patients selon le sexe.	23
Figure 11	Répartition des patients selon l'âge chez les deux sexes.	24
Figure 12	Répartition d'hépatoblastome selon le type histologique.	25
Figure 13	Composants épithéliaux de spécimens sélectionnés d'hépatoblastome.	25
Figure 14	Répartition d'hépatoblastome mixte avec et sans composantes. Tératoïdes	26
Figure 15	Hépatoblastome mixte.	27
Figure 16	Hépatoblastome épithélial de type embryonnaire.	28
Figure 17	HB épithélial à cellules indifférenciées prédominantes.	28
Figure 18	HB épithélial de type fœtal.	29
Figure 19	HB épithélial de prédominance fœtal. Expression modérée focale d'AFP.	32
Figure 20	HB fœtal pur. Expression élevée focale d'AFP.	32
Figure 21	HB mixte. Absence d'expression d'AFP dans le contingent mésenchymateux.	33
Figure 22	HB fœtal. Accumulation membranaire et cytoplasmique de la β -caténine avec intensité modérée.	36

Figure 23	HB embryonnaire. Accumulation membranaire / cytoplasmique de la β -caténine avec intensité faible.	36
Figure 24	HB mixte. Le composant macro-trabéculaire : accumulation membranaire de la β -caténine avec intensité modérée.	37
Figure 25	HB mixte. Le composant embryonnaire : accumulation membranaire et nucléaire avec intensité modérée. Le composant mésenchymateux : faible intensité.	37

SOMMAIRE

Introduction	1
CHAPITRE I : Rappels Bibliographiques	
I. 1. Rappels anatomique, histologique et physiologique du foie	3
I.1.1. Anatomie	3
I.1.2. Histologie	4
I.1.3. Physiologie	6
I.2. Hépatoblastome	6
I.2.1. Epidémiologie	6
I.2.2. Facteurs de risque	6
I.2.3. Dépistage et diagnostic	7
I.2.4. Anatomie pathologique	9
I.2.4.1. Macroscopie	9
I.2.4.2. Microscopie	9
I.2.5. Base cellulaire et moléculaire de l'hépatoblastome	11
I.2.5.1. Base cellulaire de l'hépatoblastome	11
I.2.5.2. Base moléculaire de l'hépatoblastome	11
I.2.6. Pronostic	14
I.2.6.1. Corrélations histologiques ou cellulaires du pronostic tumoral	15
I.2.6.2. Corrélations moléculaires du pronostic tumoral	15
I.2.7. Les différentes classifications de le HB	15
I.2.7.1. Classification histopathologique	15
I.2.7.2. Classification PRETEXT	16
I.2.7.3. Classification moléculaire	16
I.2.8. Traitement	16
I.2.9. Prévention.....	17
CHAPITRE II : Matériel Et méthodes.....	
II.1. Matériel	18
II.1.1. Matériel biologique	Erreur ! Signet non défini.
II.1.2. Matériel non biologique	19
II.2. Méthodes	20
II.2.1. Examen macroscopique	20
II.2.2. Examens microscopique	20

II.2.3. L'immunohistochimie	21
CHAPITRE III : Résultats et Discussion	
III.1. Résultats.....	23
III.1.1. Etude descriptive de la série	23
III.1.1.1. Répartition selon le sexe	23
III.1.1.2. Répartition selon l'âge	24
III.1.2. Etude histologique	25
III.1.2.1. Répartition d'hépatoblastome selon le type histologique	25
III.1.2.2. La répartition des sous-types d'hépatoblastome épithélial	25
III.1.2.3. Répartition d'hépatoblastome mixte avec et sans composantes tératoïdes	26
III.1.3. Etude immunohistochimique	30
III.1.3.1. Etude immunohistochimique de l'AFP et son dosage sérique	30
III.1.3.2. Etude immunohistochimique de la β -caténine.....	34
III.2. Discussion	38
CONCLUSION	42
Références bibliographiques	44
ANNEXE	

Introduction

L'hépatoblastome (HB) est une tumeur pédiatrique maligne relativement rare (Horton *et al.*, 2009). Il atteint surtout l'enfant de moins de 03 ans (Taque *et al.*, 2013). Les garçons sont plus touchés que les filles avec un âge moyen de 18 mois au moment du diagnostic (Ochi *et al.*, 2015). La plupart des HB sont sporadiques, mais certains sont associés à des anomalies et à des malformations génétiques constitutionnelles, comme le syndrome de Beckwith-Wiedemann (SBW) et la polypose adénomateuse familiale (PAF). Au cours des trois dernières décennies, l'incidence annuelle de HB chez les enfants a progressivement augmenté (Hiyama, 2014). Il se révèle le plus souvent par une augmentation du volume de l'abdomen. Cependant, chaque enfant peut éprouver des symptômes différemment (Justine *et al.*, 2016).

Le diagnostic de HB repose sur l'imagerie et le dosage de l'AFP (Hilali *et al.*, 2014). Le niveau sérique d'AFP est élevé chez 90% des enfants atteints de HB, et les tumeurs qui ne parviennent pas à exprimer l'AFP au moment du diagnostic sont jugées biologiquement plus agressives (Meyers, 2007). La biopsie percutanée peut être utilisée pour établir le diagnostic (Ochi *et al.*, 2015).

Les HB sont évidemment dérivés de cellules souches ou de cellules progénitrices précoces des différents composants épithéliaux du foie (Von Schweinitz, 2012). Ceci explique l'hétérogénéité cellulaire de la tumeur et les différents sous-types histologiques observés (Garnier *et al.*, 2016). Ils sont classés en deux types : les HB purement épithéliales et les HB mixtes (épithélial et mésenchymateux) (Vokuhl *et al.*, 2016). Le HB épithélial comprenant les sous-types suivants : fœtal pur, embryonnaire, macro-trabéculaire (MT) et le sous-type indifférencié à petites cellules (SCU). Bien que le HB mixte peut présenter avec ou sans caractéristiques tératoïdes (Spyridakis *et al.*, 2014).

Les anomalies biochimiques, biologiques et moléculaires récemment détectées dans les HBs sont liées à la croissance et à la régulation du cycle cellulaire. Les altérations de la voie de signalisation β -caténine sont les plus importants dans les HB (Zimmermann, 2005). la β -caténine est mutée dans 50 à 90 % des cas d'HB (Davenport *et al.*, 2012).

L'objectif de notre travail est d'étudier l'aspect morphologique et moléculaire de HB. Nous avons essayé d'évaluer l'expression de l'AFP dans le diagnostic des différents sous-types histologiques de HB et de chercher d'une part, une éventuelle corrélation entre

l'expression de l'AFP et leurs sous-types histologiques et d'autre part, la corrélation entre l'expression de cette protéine et leur taux sérique. Nous avons aussi essayé de chercher la localisation de la β -caténine et son intensité dans les différents sous-types histologiques afin de détecter le type de l'accumulation, au niveau des cellules tumorales.

Pour ce faire, nous avons divisé notre travail en trois chapitres. Outre l'introduction, le premier chapitre concernant les données bibliographiques rapporte des données histophysiologiques du foie et comporte une synthèse bibliographique sur l'hépatoblastome. Dans le deuxième chapitre, nous présentons respectivement le matériel et les méthodes utilisés pour la réalisation de ce travail, tandis que le troisième chapitre est consacré aux résultats obtenus et leur discussion. Enfin, nous terminons par une conclusion générale et des perspectives.

I. 1. Rappels anatomique, histologique et physiologique du foie

I.1.1. Anatomie

Le foie est la plus volumineuse des glandes annexes du tube digestif. Il a des fonctions métaboliques complexes, indispensables à la vie (Castaing et Veilhan, 2008). Il est entouré d'une capsule fibreuse, la capsule de Glisson, qui se prolonge à l'intérieur du foie par les gaines fibreuses périportales entourant les vaisseaux portaux ou pédicule glissonien. Ce pédicule est composé de la veine porte, l'artère hépatique et le canal biliaire. Le foie est un organe porte, c'est-à-dire interposé entre deux circulations veineuses : la circulation porte et la circulation cave (Deren, 2012).

Ainsi, on décrit extérieurement deux lobes principaux, délimités par l'insertion du ligament rond et du ligament falciforme, le sillon gauche et le sillon du ligament veineux : le lobe droit (environ 75 % du volume) et le lobe gauche (environ 25 % du volume) (Beaugerie et Sokol, 2014) (Figure 1).

Entre ces deux lobes majeurs, on distingue le lobe carré et le lobe caudé. La vésicule biliaire est attachée au foie à la limite du lobe carré et du lobe hépatique droit. Le lobe carré et le lobe caudé sont séparés par un sillon appelé le hile du foie. C'est au niveau du hile que la veine porte et l'artère hépatique pénètrent dans le foie, et que passent des canaux biliaires majeurs (Ciaccio et Castaing, 2015) (Figure 2).

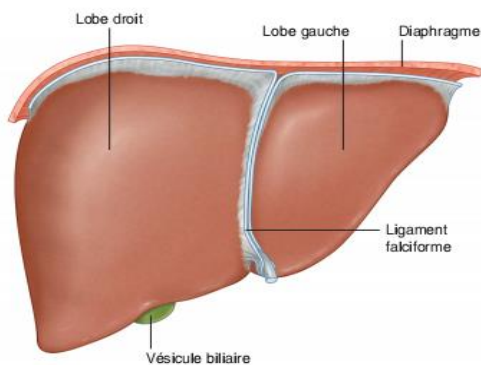


Figure 1 : Face diaphragmatique du foie

(Beaugerie et Sokol, 2014).

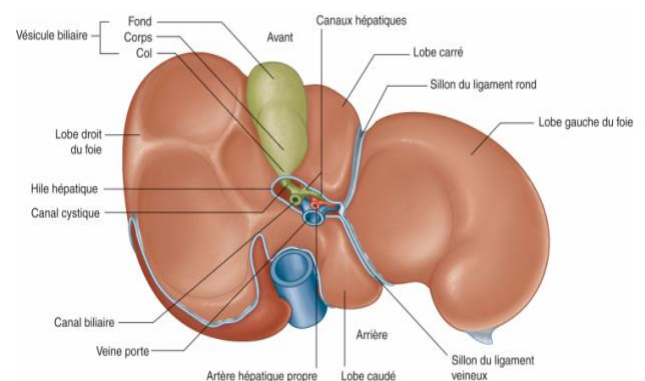


Figure 2 : Faces viscérales du foie

(Beaugerie et Sokol, 2014).

Chaque lobe du foie est divisé en segments; on compte 8 segments numérotés de I à VIII (Ciaccio et Castaing, 2015). Le foie gauche (segments II, III et IV) reçoit la branche de la veine porte, le foie droit (segments V, VI, VII, VIII) la branche droite. Le segment I (lobe caudé) n'appartient ni au foie droit ni au foie gauche (Adem et Petit, 2014) (Figure 3).

Ces divisions anatomiques sont importantes pour les interventions chirurgicales (Ciaccio et Castaing, 2015).

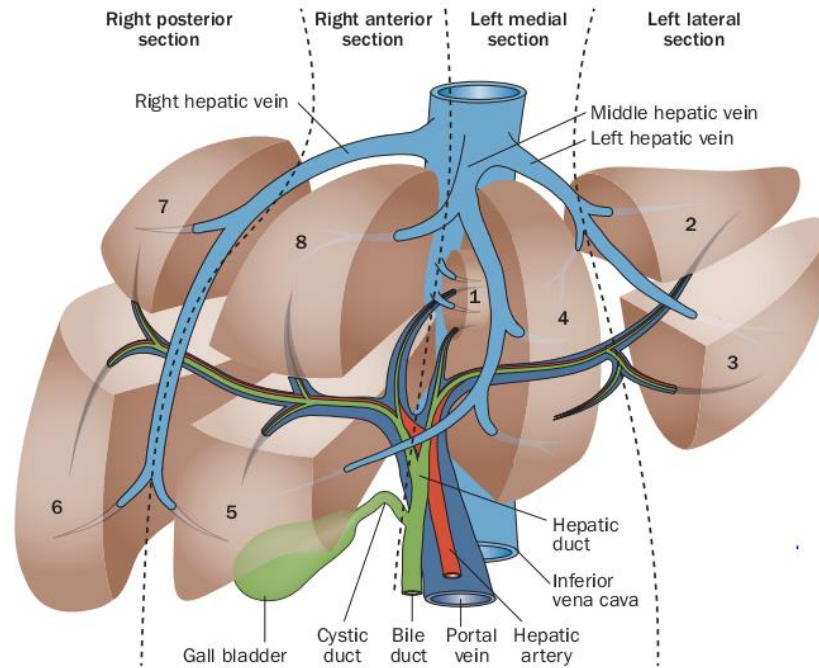


Figure 3 : Segments du foie humain et nomenclature chirurgicale actuelle des sections de foie (Siriwardena *et al.*, 2014).

I.1.2. Histologie

Le foie est constitué de millions de lobules hépatiques entre lesquels circulent :

- les vaisseaux sanguins qui alimentent les lobules et collectent les substances qu'ils produisent.
- des canaux biliaires qui collectent la bile produite par les lobules.

Au centre de chaque lobule hépatique, une veine centrolobulaire collecte le sang qui quitte le lobule. Chaque lobule est constitué de milliers de cellules hépatiques et des sinusoides (Ciaccio et Castaing, 2015) (Figure 4).

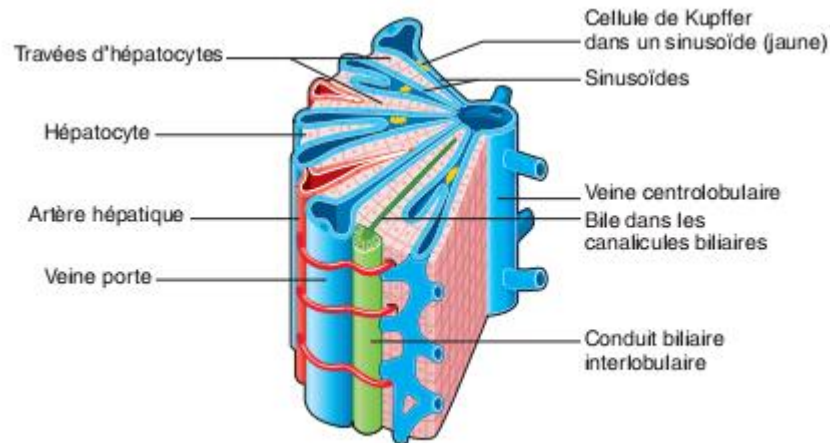


Figure 4 : Schéma de l'organisation histologique du lobule hépatique (Beaugerie et Sokol, 2014).

✚ Les hépatocytes

Sont des grandes cellules polyédriques avec de gros noyaux ronds au nucléole bien visible. La taille des noyaux peut changer de façon importante en fonction de l'état de la cellule. Le cytoplasme, très abondant et granulaire, a également un aspect variable qui dépend de l'état nutritionnel de l'individu. Les cellules bordantes des sinusoides se distinguent facilement des hépatocytes par leurs noyaux aplatis, condensés, et leur cytoplasme peu coloré (Beaugerie et Sokol, 2014).

✚ Les sinusoides

Sont fenestrés et ne sont pas entourés de membrane basale. Leur paroi est constituée de quatre types de cellules : cellules endothéliales sinusoidales, cellules de Kupffer, cellules étoilées du foie et lymphocytes associés du foie. Les sinusoides sont séparés des hépatocytes et plus particulièrement de leurs membranes sinusoidales par l'espace de Disse, contenant quelques fibres et faisceaux de collagène et autres composants matriciels (Elmarzgioui, 2009).

✚ Les hépatoblastes

Ce sont des progéniteurs bipotents ; les hépatoblastes situés dans le parenchyme hépatique donnent naissance aux hépatocytes. En revanche, la différenciation biliaire est induite dans les hépatoblastes situés à l'interface entre le mésenchyme entourant la veine porte et le parenchyme hépatique. Elles expriment les gènes du foie fœtal (AFP) ainsi que les marqueurs des hépatocytes (Albumine) et des cellules épithéliales biliaires (Cytokératine-19) (Zorn, 2008).

I.1.3. Physiologie

Le foie occupe une position centrale dans le métabolisme général (Lullmann-Rauch, 2008). C'est l'organe principal du maintien de la glycémie, par la réserve de glucose sous forme de glycogène (Monge, 2006). Il effectue des sécrétions exocrines (bile) et synthétise de nombreuses substances passant dans le sang, comme des protéines sériques, des facteurs de coagulation, des lipoprotéines, (Lullmann-Rauch, 2008), aussi des protéines de l'inflammation, certains facteurs de croissances et le cholestérol. Le foie joue un rôle majeur dans la détoxification du sang. C'est l'organe par excellence de l'immunité naturelle ; il est riche en leucocytes et représente la première ligne de défense de l'organisme en attendant que des mécanismes de l'immunité spécifiques se mettent en place (Monge, 2006).

I.2. Hépatoblastome

Les tumeurs du foie sont rares chez l'enfant, chez lequel elles ne représentent que 1,2 à 3% de toutes les tumeurs malignes pédiatriques. L'hépatoblastome est le type histologique le plus fréquent (Sarnacki *et al.*, 2009). C'est une tumeur solide abdominale (Guo, 2017) caractérisée par la prolifération de cellules épithéliales hépatiques immatures (hépatoblastes embryonnaires ou fœtaux), souvent associées à des composants d'origine mésenchymateuse (ostéoïde, chondroïde, adipocytaire) ou même occasionnellement tératoïdes (Armengol *et al.*, 2005).

I.2.1. Epidémiologie

L'incidence annuelle de l'hépatoblastome est de 1,5 cas par an pour un million d'enfants âgés de moins de 15 ans. Elle est supérieure chez les garçons (1,57) par rapport aux filles (1,09) (Czuderna *et al.*, 2014). Au cours des trois dernières décennies, l'incidence annuelle de HB chez les enfants a progressivement augmenté (Hiyama, 2014). L'amélioration des connaissances et de la prise en charge des patients atteints de HB a permis une augmentation globale de la survie de 30% dans les années 1970 à 80% aujourd'hui (Czuderna *et al.*, 2014). Cependant, des écarts importants subsistent en fonction du stade de la maladie avec une survie globale allant jusqu'à 100% pour les stades les plus précoces et qui descend à 30% pour les stades les plus avancés (Von Schweinitz, 2012).

I.2.2. Facteurs de risque

La plupart des cas de HB sont sporadiques mais 5% sont associés à des anomalies génétiques constitutionnelles, des malformations et/ou des syndromes de cancers familiaux.

L'incidence de HB est plus élevée en cas de SBW, la PAF, le syndrome de Li Fraumeni, occasionnellement on retrouve des cas de HB associés à la trisomie 18 (syndrome d'Edward), la neurofibromatose, l'ataxie télangiectasie, l'anémie de Fanconi (Justine *et al.*, 2016), syndrome de Gardner, syndrome d'alcoolisme fœtal (Salam *et al.*, 2009) et hemihypertrophie (Garnier *et al.*, 2016).

Certains gènes ont été impliqués (gène APC, β -caténine). Il peut exister une perte d'hétérozygotie du chromosome 11 (Franchi-Abella et Pariente, 2005).

Des facteurs de risques environnementaux ont également été identifiés tels que l'oxygénothérapie, les médicaments tels que le furosémide, la nutrition parentérale totale, les radiations, les plastifiants et d'autres toxines jouent un rôle. De plus, des études récentes ont montré que le tabagisme maternel et paternel préconceptionnel et le tabagisme gestationnel constituent un facteur de risque d'hépatoblastome (Von Schweinitz, 2012), L'exposition professionnelle maternelle au charbon, pétrole, colorants ou pigments (El Alaoui, 2015).

La naissance prématurée et un petit poids à la naissance (<1,500 kg) sont également des facteurs de risques de développement de HB (Ansell *et al.*, 2005).

I.2.3. Dépistage et diagnostic

Chaque enfant peut éprouver des symptômes différemment. Les symptômes peuvent varier en fonction de la taille de la tumeur, la présence et la localisation des métastases. Les symptômes peuvent inclure: une grande masse abdominale, l'hépatomégalie, une perte de poids, une perte d'appétit, des douleurs abdominales, des nausées et des vomissements, l'ictère, la fièvre, des démangeaisons et des veines dilatées sur le ventre qui peuvent être vues à travers la peau (Justine *et al.*, 2016).

Certains hépatoblastomes sécrètent de la β -HCG, pouvant parfois être responsable de signes de puberté précoce ce qui peuvent témoigner d'un syndrome paranéoplasique (Franchi-Abella et Pariente, 2005).

Lors de la suspicion d'un HB, plusieurs analyses sont nécessaires pour réaliser le diagnostic (Indersie, 2016).

✚ Le bilan biologique

L'alpha-foetoprotéine (AFP) sérique est le marqueur clinique le plus important pour HB et reste le principal marqueur clinique du changement malin (Hiyama, 2014) ; il est élevé dans plus de 90 % des cas d'hépatoblastomes (Spyridakis *et al.*, 2014 ; Justine *et al.*, 2016). De plus,

plusieurs études ont montré que certains HB agressifs et associés à un mauvais pronostic présentent un niveau bas d'AFP (<100ng/mL) (Meyers et al., 2009 ; Spyridakis *et al.*, 2014).

L'AFP est une glycoprotéine de masse relative 67 kDa. Normalement sécrétée par le placenta puis par le foie du fœtus. Elle a une demi-vie de 5 à 6 jours. Sa synthèse s'arrête progressivement à partir de la naissance et son taux, élevé dans le sang du nouveau-né, décroît régulièrement pour se normaliser (< 10 ng/ml) vers le huitième mois de vie. Les dosages d'AFP sont possibles sur le sérum, le liquide amniotique et parfois, les liquides de ponction. Les techniques sont immunochimiques (Denis *et al.*, 2000).

✚ Formule sanguine complète

Une mesure de la taille, le nombre et la maturité des différentes cellules sanguines dans un volume spécifique de sang. On remarque souvent un thrombocytose, la tumeur produit une thrombopoïétine (Justine *et al.*, 2016).

✚ L'imagerie

L'imagerie doit non seulement confirmer la localisation intra-hépatique de la masse, mais aussi renseigner sur l'opérabilité de la tumeur et identifier des localisations secondaires (Taque *et al.*, 2013).

-A l'échographie abdominale : L'hépatoblastome se présente le plus souvent comme une masse unique volumineuse d'échostructure solide, hyperéchogène (Justine *et al.*, 2016), mais il peut aussi être multicentrique ou diffus à l'ensemble du parenchyme (Taque *et al.*, 2013).

-Le scanner et/ou l'imagerie par résonance magnétique (IRM) permettent de mieux définir la localisation de la tumeur par rapport à la segmentation hépatique et pour rechercher une atteinte des vaisseaux (veines sus -hépatiques, veine porte et/ou veine cave inférieure). Au scanner, la lésion reste hypodense par rapport au foie sain et la différence de densité se majore après injection de produit de contraste (Justine *et al.*, 2016).

-L'invasion vasculaire est décrite par l'examen tomodensitométrie (TDM) (Justine *et al.*, 2016).

-Au moment du diagnostic, les métastases à distance sont recherchées au niveau des poumons par la radiographie et le scanner (Chorfi, 2013).

✚ La biopsie

Pour la confirmation histologique du diagnostic, une biopsie est habituellement prise chez des patients qui ne subissent pas de résection tumorale primaire (Von Schweinitz, 2012). Elle

faite par laparotomie, par laparoscopie, ou par une biopsie à aiguille percutanée guidée par image dans la plupart des cas (Von Schweinitz, 2012 ; Davenport *et al.*, 2012).

La biopsie est indispensable si le taux d'AFP n'est pas très élevé ($\leq 10\ 000$ ng/ml) et chez l'enfant de plus de trois ans (Chorfi, 2013).

I.2.4. Anatomie pathologique

L'hépatoblastome semble localisée un peu plus souvent dans le lobe droit du foie que le gauche. Des atteintes des deux lobes ont été décrites (Louis, 2009) (Annexe 1).

I.2.4.1. Macroscopie

La tumeur solitaire ou multifocale apparaît de couleur bigarrée, lobulée par des cloisons blanchâtres, comportant des foyers de nécrose jaunâtre ou hémorragique, des calcifications, voire des ossifications ; ces remaniements étant plus ou moins intenses en fonction de la réponse tumorale à la chimiothérapie. La tumeur mal limitée emprisonne des foyers de parenchyme non tumoral remaniés par l'inflammation et la fibrose d'autant plus importants que la tumeur est volumineuse au diagnostic, atteignant parfois plus de 12 cm de plus grand diamètre (Taque *et al.*, 2013) (Figure 5).



Figure 5: image macroscopique d'un hépatoblastome (Bell *et al.*, 2017).

I.2.4.2. Microscopie

Les hépatoblastomes peuvent être du type épithélial pur contenant des cellules fœtales ou embryonnaires ou un mélange des deux sous-types histologiques. D'autres sous-types épithéliaux comprennent le sous-type macrotrabéculaire (MT), cholangioblastique et indifférencié à petites cellules (SCU) (anciennement anaplasique) (Otte, 2010 ; Spyridakis *et al.*, 2014). Une forme mixte de HB contient du tissu mésenchymateux en plus des composants épithéliaux (Otte, 2010). Le tissu mésenchymateux incluant des cellules fusiformes stromales, du tissu ostéoïde ou chondroïde ou du muscle squelettique, il apparaît plus hétérogène, en rapport avec la présence de tissu cartilagineux, fibreux, des calcifications et des zones anéchogènes correspondant à des nécroses ou des hémorragies (Taque *et al.*, 2013).

Le HB mixte peut se présenter avec caractéristiques teratoïdes (Otte, 2010), quand il contient du tissu mélanique, du tissu neuro-ectodermique ou des dérivés endoblastiques (Taque *et al.*, 2013), ou peut présenter sans caractéristiques teratoïdes (Otte, 2010).

Le HB fœtal est constitué de cellules qui ressemblent à des hépatoblastes fœtaux pendant le développement embryonnaire. Les cellules polygonales mesurant entre 10 et 20 µm de diamètre poussent en feuilles ou en trabécules à une ou deux cellules. Ces cellules ont des noyaux ronds centralisés avec des enveloppes nucléaires bien délimitées, une chromatine finement pointillée et des nucléoles discrets. Le cytoplasme apparaît souvent clairement en raison de la présence de glycogène ou de lipide cytoplasmique. Ils contiennent généralement des grappes de précurseurs hématopoïétiques (hématopoïèse extramédullaire) (Sharma *et al.*, 2016).

L'histologie embryonnaire de HB ressemble au foie à 6-8 semaines de gestation et est le schéma le plus couramment rencontré. Les cellules d'hépatoblastome embryonnaire sont d'environ 10 à 15 µm de diamètre, rondes ou plus communément angulées, avec un peu de cytoplasme et un rapport nucléocytoplasmique élevé. Ils poussent en feuilles et forment souvent des structures tubulaires ou acinaires autour d'une lumière centrale (Sharma *et al.*, 2016).

Les cellules de HB SCU mesurent une taille de 7 à 8 µm. Ils sont ronds à ovales avec un peu de cytoplasme, une chromatine nucléaire relativement fine, des nucléoles peu visibles et une activité mitotique minimale (Sharma *et al.*, 2016).

Le HB cholangioblastique montre une différenciation cholangiocytaire sous forme de petites structures canalaire, qui expriment des Cytokératines biliaires 7 et 19. Ces éléments peuvent être situés dans ou entourant le composant hépatocellulaire de la tumeur. Ils doivent être différenciés des structures tubulaires ou acinaires trouvées dans l'hépatoblastome embryonnaire,

qui sont typiquement faibles avec moins de cytoplasme, plus actif mitotiquement (Sharma *et al.*, 2016).

Le HB MT est caractérisé par des plaques de cellules de plus de 20 cellules qui peuvent être trouvées sous forme pure ou en combinaison avec d'autres motifs. Les cellules de ces macrotrabécules peuvent être fœtales, embryonnaires ou pléomorphes et peuvent être similaires à celles observées dans le carcinome hépatocellulaire (Haas *et al.*, 1989 ; Sharma *et al.*, 2016).

I.2.5. Base cellulaire et moléculaire de l'hépatoblastome

I.2.5.1. Base cellulaire de l'hépatoblastome

L'origine de l'hépatoblastome est complexe car elle provient d'hépatoblastes primaires et probablement de cellules souches hépatiques encore moins différenciées ou de cellules progénitrices multipotentes hépatiques fœtales humaines (HFLMPC) (Bell *et al.*, 2017).

L'origine potentielle des hépatoblastomes des hFLMPCs pourrait expliquer non seulement l'hétérogénéité cellulaire de la tumeur et les différents sous-types histologiques observés (Bell *et al.*, 2017 ; Garnier *et al.*, 2016), mais aussi pourquoi 40% des échantillons de tumeurs ont une image histologique mixte, y compris des éléments épithéliaux et mésenchymateux (Bell *et al.*, 2017).

I.2.5.2. Base moléculaire de l'hépatoblastome

Plusieurs anomalies biochimiques et biologiques moléculaires récemment détectées dans les HB sont liées à la croissance et à la régulation du cycle cellulaire. Ils incluent la régulation à la hausse des facteurs de croissance, les altérations de l'expression des facteurs qui affectent directement la progression du cycle cellulaire et les points de contrôle du cycle ainsi que les protéines de cytokines telles que PLK1 fortement exprimée dans HB pour indiquer un pronostic médiocre. Un petit nombre de gènes suppresseurs de tumeurs putatifs peuvent également être modifiés dans HB, par exemple, le gène BWR1A sur le chromosome 11p15.5 qui est impliqué dans SBW (Zimmermann, 2005).

Ils sont également caractérisés par des altérations complexes dans les voies de transduction du signal. Ils montrent l'inactivation du gène SOCS-1, un inhibiteur de liaison Janus Kinase (JAK) de la voie de signalisation JAK / STAT. Les altérations de la voie de signalisation β -caténine sont les plus importants dans les HB (Zimmermann, 2005). La β -caténine est mutée dans 50 à 90 % des cas de HB (Davenport *et al.*, 2012 ; Taque *et al.*, 2013), et ses partenaires APC et Axine sont mutés dans 5 à 10 % des HB. D'autres voies ont été décrites comme, la voie

NOTCH, et la voie de l'IGF2 (Taque *et al.*, 2013). La voie de hérisson Hedgehog (HH) (Von Schweinitz, 2012) et la protéine cycline D1 (CCND1) était détecté à des stades avancés de la tumeur (Armengol *et al.*, 2011).

✚ La β -caténine

β -caténine est une protéine très conservée au cours de l'évolution, que l'on retrouve sous le nom d'Armadillo chez *Drosophila melanogaster* (Spencer *et al.*, 2006). Elle est de 92 kDa, constituée de 781 acides aminés, localisée dans le cytoplasme et le noyau des cellules (Lazar *et al.*, 2005). CTNNB1 ; le gène codant pour la β -caténine localisé à la bande p22 sur le bras court du chromosome 3 (3p22.1), contient du N-terminal au C-terminal, un site de phosphorylation par la GSK-3 β de serine-thréonine, un site de liaison à α -caténine, 13 répétitions d'armadillo et un domaine de transactivation (Debuire *et al.*, 2002) (Figure 6).

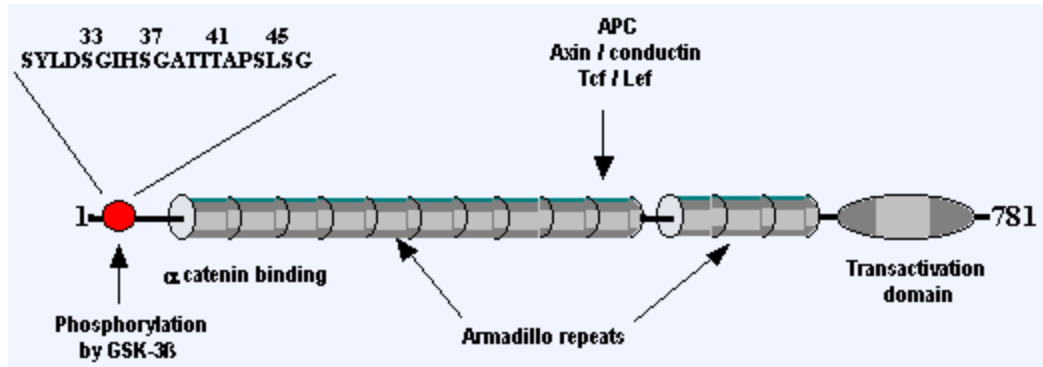


Figure 6 : Représentation de la protéine β -caténine-1 avec ses domaines d'interaction protéique (Debuire *et al.*, 2002).

La β -caténine est un effecteur essentiel de la signalisation Wnt (Buendia 2002). Cette protéine multifonctionnelle joue un rôle essentiel dans le développement de divers organes humains, y compris le muscle squelettique et le cerveau, pendant la croissance et la régénération du foie ; joue un rôle important tant dans la prolifération des hépatoblastes et la différenciation et la maturation des hépatocytes que dans l'adhésion intercellulaire (Bell *et al.*, 2017). Dans les cellules épithéliales normales, la β -caténine se trouve à la membrane plasmique, dans un complexe avec E-cadhérine, α -caténine et α -actinine (Adesina *et al.*, 2008). Elle régule la coordination de l'adhésion cellulaire et de la transcription des gènes (Bourroul *et al.*, 2016). Elle sert de facteur clé dans les processus de développement embryonnaire tels que le transport cellulaire, l'apoptose et l'activation anormale de la tumeur (MA *et al.*, 2015).

- **La voie canonique Wnt / β -caténine**

État WNT ON :

Une fois rassemblées par Wnt du côté N-terminal extracellulaire (riche en cystéine), Frizzled (FZD) (un membre de la superfamille des récepteurs couplés à la protéine G) et LRP recrutent la protéine Dishevelled (Dsh) du côté intracellulaire. Dsh recrute ensuite une protéine-kinase appelée GSK3 (Glycogen Synthétase Kinase 3) qui va d'une part phosphoryler la partie intracellulaire de LRP et d'autre part, cesser de phosphoryler la β -caténine, ce qui permet sa translocation vers le noyau et son association avec Tcf / Lef et l'activation des gènes cibles tel : MYC / CCND1. ZNRF3 favorise la dégradation du fonctionnement du récepteur WNT en tant que suppresseur de tumeurs (Pai *et al.*, 2017).

État WNT OFF :

en l'absence de ligand WNT, le complexe de destruction de la β -caténine, un complexe tertiaire formé par axine, APC, CK1 α et GSK 3 β phosphoryle la β -caténine, qui par la suite subit une dégradation par protéasome (Pai *et al.*, 2017) (Figure 7).

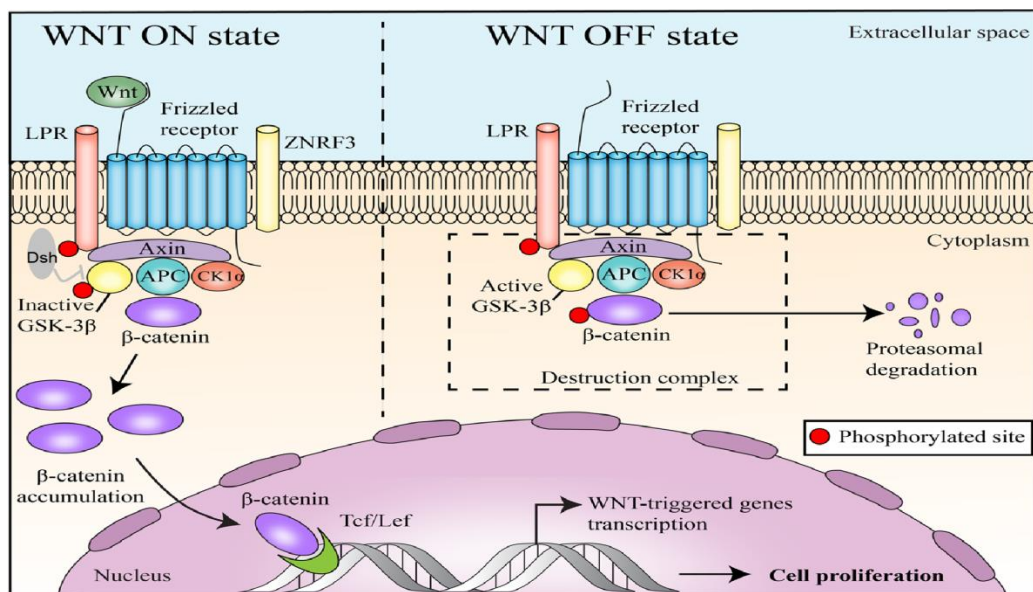


Figure 7 : Voie canonique de Wnt / β -caténine (Pai *et al.*, 2017).

- **Mutations activatrices de la β -caténine et oncogénèse**

La surexpression de la β -caténine induit une transformation maligne des lignes de cellules immortalisées (Adesina *et al.*, 2009) (figure 8).

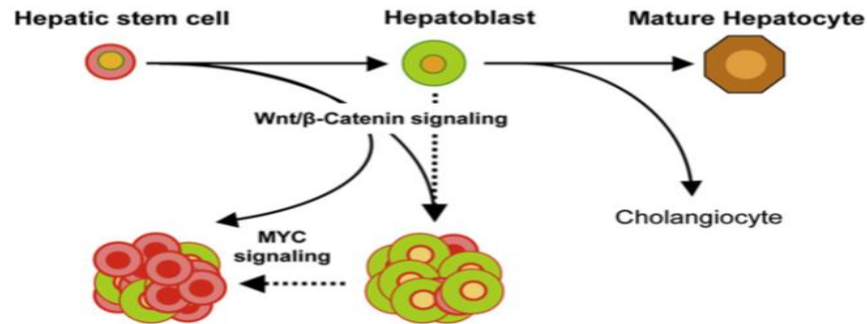


Figure 8 : Les étapes du développement normal du foie et de développement de HB

(Cairo *et al.*, 2008).

Donc, Si la phosphorylation de la β -caténine est affectée en raison de mutations ou de délétions dans l'exon 3 du CTNNB1 ou des mutations affectant le mécanisme de dégradation de la β -caténine, la voie devient active, comme cela est évident dans de nombreux cancers (Bell *et al.*, 2017).

La plupart des mutations dans l'hépatoblastome sont des délétions interstitielles ou des mutations ponctuelles dans l'exon 3 du CTNNB1, qui modifient directement les sites de phosphorylation de serine / thréonine de la β -caténine ou modifient un résidu dans le voisinage immédiat des sites de phosphorylation, ce qui rend la protéine β -caténine méconnaissable pour la dégradation (Bell *et al.*, 2017).

Il a été démontré que des délétions plus importantes affectant l'exon 3 de CTNNB1 sont plus fréquentes dans l'hépatoblastome avec histologie fœtale, alors que les mutations ponctuelles sont relativement plus abondantes dans les tumeurs embryonnaires et les hépatoblastomes SCU (Bell *et al.*, 2017).

La connexion YAP- β -caténine : Yap est un composant de la voie de signalisation Hippo. Il n'y avait pas de développement de tumeur lorsque la β -caténine mutante ou l'Yap mutant a été exprimée individuellement. La voie de signalisation de Yap coopère avec celle de la β -caténine dans la pathogenèse de l'hépatoblastome (Bell *et al.*, 2017).

I.2.6. Pronostic

Étant donné que le résultat clinique dépend principalement de la résection tumorale complète, les facteurs pronostiques actuels dépendent de la résécabilité tumorale qui tient compte de l'extension de la tumeur intra-hépatique, de la multifocalité, de l'invasion des vaisseaux

hépatiques et des métastases à distance. Sur ces bases, les groupes à haut risque sont identifiés et traités avec des protocoles de chimiothérapie intensifiés (Armengol *et al.*, 2011).

I.2.6.1. Corrélations histologiques ou cellulaires du pronostic tumoral

Le pronostic est généralement considéré comme meilleur pour les HB du type fœtal pur par rapport aux types embryonnaires, SCU ou MT, moins différenciés et plus agressifs (Armengol *et al.*, 2011).

L'histologie fœtale pur a le plus petit indice mitotique, la présentation de la maladie est locale, habituellement limitée à un lobe du foie (Bell *et al.*, 2017).

D'autre part, l'histologie embryonnaire pose un risque plus élevé d'invasion dans de multiples segments du foie et des vaisseaux sanguins et des lymphatiques, ainsi qu'un risque accru de métastase car il est moins différencié et peut contenir des éléments anaplastiques et teratoïdes. L'indice mitotique est habituellement élevé dans ces cas (Bell *et al.*, 2017).

Le sous-type SCU est associé à un pronostic défavorable et une plus grande incidence de métastases (Davenport *et al.*, 2012).

I.2.6.2. Corrélations moléculaires du pronostic tumoral

Étant donné que la localisation de la β -caténine diffère dans les sous-types histologiques de l'hépatoblastome, elle peut avoir une signification pronostique. Les hépatoblastes faiblement différenciés (embryonnaire et SCU) ont une coloration nucléaire intense de la β -caténine, tandis que les hépatocytes fœtaux purs (WDF) ont une coloration membranaire prédominante de cette protéine avec seulement une coloration nucléaire focale dans de nombreux cas. La visualisation nucléaire de la β -caténine par IHC a été corrélée à une croissance tumorale plus agressive, à un mauvais pronostic du patient et à une maladie avancée (Bell *et al.*, 2017).

I.2.7. Les différentes classifications de le HB

Le système de mise en scène TNM standard n'est pas utilisé habituellement chez les patients atteints de HB (Fabre *et al.*, 2004 ; Horton *et al.*, 2009).

I.2.7.1. Classification histopathologique

Deux formes histologiques principales sont décrites et utilisées dans les classifications depuis de nombreuses années (Meyers *et al.*, 2011) : le type purement épithélial (56%) , qui est le plus commun, et le type mixte épithélial/mésenchymateux (44%) . Parmi les HB purement

épithéliaux, on distingue des sous-types histologiques: fœtal (31%), embryonnaire (19%), SCU (3%), MT (3%). Les HB mixtes peuvent être dérivés de cellules stromales ou d'éléments hétérogènes (sous-type tératoïdes) (Czauderna *et al.*, 2014 ; Garnier *et al.*, 2016).

I.2.7.2. Classification PRETEXT

La classification PRETEXT est réalisée avant l'intervention, à partir des résultats des examens d'imagerie médicale pour caractériser la localisation de la tumeur. Le foie est divisé en quatre secteurs, la classification est définie par le nombre de sections hépatiques touchées par la tumeur au moment du diagnostic :

- Le stade I : la tumeur ne touche qu'un seul secteur hépatique
- Le stade II : la tumeur touche deux secteurs hépatiques adjacents
- Le stade III : la tumeur touche trois secteurs hépatiques adjacents
- Le stade IV : la tumeur touche les quatre secteurs hépatiques (Justine *et al.*, 2016).

PRETEXT utilise également d'autres paramètres pour évaluer la propagation de la tumeur au-delà du foie (Garnier *et al.*, 2016) (Annexe 2).

I.2.7.3. Classification moléculaire

Des analyses moléculaires ont permis de mettre en évidence deux sous-types de HB: Les tumeurs C1 sont de type histologique fœtal pour la plupart alors que les tumeurs C2 sont plus immatures, majoritairement embryonnaires, MT, ou de type fœtal associé à une forte prolifération. Les tumeurs C1 dont le pronostic est plus favorable et les C2 qui sont plus agressives et de mauvais pronostic. Les taux de mutations de CTNNB1 sont élevés dans les deux groupes et l'expression de la β -caténine est forte dans le cytoplasme et le noyau des cellules de ces tumeurs. Cependant, les tumeurs C1 montrent une localisation de la β -caténine majoritairement membranaire et cytoplasmique alors que les tumeurs C2 montrent plutôt une forte accumulation de la β -caténine dans le noyau (Indersie, 2016).

I.2.8. Traitement

Le traitement habituel comprend :

- Une chimiothérapie préopératoire de deux à trois mois, à base de cisplatine : les hépatoblastomes sont sensibles à la chimiothérapie. En général, le premier traitement est la chimiothérapie surtout s'il est non extirpable afin de réduire la tumeur pour qu'il soit plus facile

à enlever par la suite ou pour éviter les métastases. En post-opératoire, les malades ont d'emblée une chimiothérapie (Justine *et al.*, 2016).

-L'exérèse chirurgicale de la tumeur qui doit permettre l'exérèse de la totalité du tissu tumoral et la conservation des pédicules nécessaires à l'irrigation et au drainage de la partie du foie restante: il ne doit pas y avoir des métastases pour pouvoir opérer et l'exérèse doit être complète. La plupart des tumeurs sont opérées après chimiothérapie (Justine *et al.*, 2016).

-La radiothérapie : La radiothérapie peut avoir une place dans le traitement des hépatoblastomes incomplètement réséqués (Justine *et al.*, 2016).

-Lorsque la tumeur est trop importante, une transplantation hépatique est, alors, indiquée (Justine *et al.*, 2016).

I.2.9. Prévention

Si cette tumeur survient dans les premiers mois de la vie, il faut plusieurs dosages successifs d'AFP montrant une augmentation du taux pour mettre en évidence une sécrétion tumorale anormale. Lors de la surveillance sous traitement, il faut également tenir compte de l'âge de l'enfant et faire plusieurs dosages avant de prendre une décision thérapeutique (Chorfi, 2013).

Matériel et méthodes

Notre étude rétrospective a portée sur 30 hépatoblastomes, diagnostiqués au laboratoire d'anatomie pathologique du centre hospitalier universitaire (CHU) Mustapha Bacha à Alger, sur une période allant de septembre 2007 à janvier 2017. L'étude a comme objectifs le diagnostic et le pronostic d'hépatoblastome par une étude des liens entre ses sous-types histologiques et les molécules AFP et β -caténine.

Cette étude a été développée à partir des fiches des malades et des registres archivés du service ; les différents paramètres d'études sont :

- L'âge
- Le sexe
- Les types et les sous-types histologiques
- taux sériques d'AFP.
- L'intensité du marquage immunohistochimique de l'AFP et de la β -caténine.

La durée de notre stage était de 8 mois, de février à septembre 2017 au niveau du même service, où on a réalisé l'étude immunohistochimique sur 11 cas du HB, afin d'étudier le siège et l'intensité de marquage de l'AFP et de la β -caténine.

II.1. Matériel

III.1.1. matériel biologique

Echantillonnage

Les prélèvements tissulaires ont été obtenus le plus souvent par une ponction biopsie hépatique (PBH), et rarement par une biopsie chirurgicale. Il consiste à prélever un ou plusieurs fragments tissulaires du parenchyme hépatique (sous forme de carottes de taille et de diamètre variés) à l'aide d'une aiguille spéciale. Elle est effectuée à l'aveugle lorsque l'ensemble de l'organe est malade, ou écho guidée lorsque la ponction doit être dirigée sur une lésion focale visible en imagerie, ou par tumorectomie.

(Annexe 3)

Ces prélèvements ont été mis dans des flacons contenant un liquide fixateur qui est le formol dilué à 10%. Ensuite ils seront acheminés vers le laboratoire d'anatomie pathologique

Matériel et méthodes

dans un bref délai pour une étude morphologique et immunohistochimique, ils sont accompagnés d'une fiche de renseignement correspondante au patient et rempli par le médecin préleveur, elle doit comporter les éléments suivants :

- Identité du patient : nom, prénom, âge et sexe.
- La date, le siège et la nature du prélèvement (ponction biopsie, tumorectomie,...)
- Les circonstances cliniques et paracliniques qui ont motivé le prélèvement.
- Diagnostic suspecté.

(Annexe 4)

II.1.2. matériel non biologique

Appareillage

- Appareil d'inclusion en paraffine « type Thermo »
- Appareil de circulation automatique « type LEICA »
- Bain marie « type LEICA»
- Congélateur
- Etuve thermostatée « type MEMMERT »
- Incubateur « type MEMMERT »
- appareil photo numérique
- Microscope photonique « type LEICA »
- Microtome rotatif « type LEICA »
- Plaque chauffante « type LEICA »

(Annexe 4)

Verreries et autres matériels (annexe 4)

Réactifs et solutions (annexe 4)

II.2. Méthodes

Le prélèvement nécessite des examens préalables : un bilan sanguin de coagulation pour savoir s'il existe un risque hémorragique, et une échographie du foie pour repérer le site de ponction.

A leur arrivée au laboratoire, les prélèvements tissulaires fixés au formol tamponné à 10%, ont été identifiés grâce à la fiche de renseignement et enregistrés avec attribution d'un matricule qui suivra le prélèvement durant toutes les étapes techniques jusqu'à l'archivage de comptes rendus, des blocs en paraffine et des lames.

La fixation permet de préserver les tissus dans un état aussi proche que possible de leur état vivant, à savoir la conservation des structures et des constituants cellulaires et leur immobilisation. Elle s'oppose à l'autolyse tissulaire et à la putréfaction ; ainsi les tissus subiront et supporteront toute manipulation.

II.2.1. Examen macroscopique

La description macroscopique comporte le nombre et les mesures des fragments tissulaires quand il s'agit du PBH. Concernant la tumorectomie, nous nous sommes intéressés à l'étude de l'aspect externe, la taille et la consistance de la tumeur, ainsi que leurs remaniements nécrotiques et/ou hémorragiques à la tranche de section.

Des prélèvements ont été effectués sur la masse tumorale par un médecin anatomopathologiste, et ensuite mis directement dans des cassettes en plastique préalablement, numérotées (chaque numéro correspondant au patient pour une date donnée).

Les petits fragments ont été placés dans un papier Joseph, compte tenu de leur petite taille, puis dans les cassettes correspondantes.

II.2.2. Examens microscopique

Pour pouvoir réaliser l'étude histologique sous microscope photonique, il faut pratiquer de coupes fines au sein des prélèvements tissulaires et biopsies. La résistance des tissus à la pression de l'arrêt de l'instrument coupant (lame) n'est pas suffisante et entraîne des détériorations qui rendent l'observation microscopique inexploitable. Pour cette raison, il est nécessaire de suivre un protocole permettant de mieux rigidifier les tissus.

Ce protocole commence par la fixation qui est décrite auparavant et suivie par une post-fixation au formol tamponné à 10%, puis de l'inclusion qui a pour but d'enfermer le prélèvement dans la paraffine qui le pénètre et l'infiltré ; par conséquent, les tissus acquièrent une consistance qui rend possible la réalisation des coupes.

La paraffine est généralement liquide à chaud, solide à température ambiante et insoluble dans l'eau et dans l'alcool ; la raison pour laquelle les fragments tissulaires contenus dans les cassettes ont été déshydratés par immersion dans l'alcool avant l'inclusion. L'alcool a été remplacé par xylène (solvant), c'est l'étape d'éclaircissement.

Enfin, les prélèvements sont imprégnés dans la paraffine liquéfiée qui remplace le xylène.

Les trois étapes déshydratation, éclaircissement et imprégnation sont automatisés dans un appareil de circulation.

L'inclusion proprement dite, précédée manuellement dans un appareil d'inclusion, conduit à la mise en disposition des blocs en paraffine contenant les tissus qui serviront à la réalisation des coupes fines de 3 µm d'épaisseur. Les coupes obtenues ont été étalées sur les lames de verre portant le numéro d'identification du bloc, puis colorées.

(Annexe 5)

Coloration des coupes

La coloration des coupes rend visible les structures cellulaires et tissulaires : d'une part, elle accentue le contraste pour mieux reconnaître les différents éléments de la préparation histologiques, d'une autre part, elle permet d'établir le type histologique de la tumeur. En effet, les colorations sont hydrophiles, tandis que la paraffine est hydrophobe, pour cette raison que la coloration des coupes comporte une étape de déparaffinage et de réhydratation.

➤ **coloration Hématoxyline-Eosine (HE) :** (annexe 6)

C'est une coloration topographique qui permet de visualiser la morphologie des cellules (l'hématoxyline colore les noyaux en bleu violet, tandis que l'éosine colore les cytoplasmes en rose) afin de déterminer leur répartition, architecture et structure.

La lecture des lames se fait par un anatomopathologiste à l'aide d'un microscope photonique aux différents grossissements : Gx20 et Gx40 et les photos sont prises à l'aide d'un appareil photos numérique.

II.2.3. L'immunohistochimie

L'immunohistochimie est une technique qui consiste à mettre en évidence la présence des sites antigéniques (AG) (substances protéiques ou glycoprotéiques) au sein des tissus, permettant ainsi de préciser leur répartition et leur localisation dans les différents comportements cellulaires, grâce à des anticorps (AC) spécifiques.

Il existe des méthodes immunohistochimiques directes et indirectes dont le principe est toujours basé sur la formation des complexes antigène-anticorps.

Principe

Des AC monoclonaux de souris dirigés contre la β -caténine, et des AC polyclonaux de lapin dirigés contre l'AFP sont appliqués sur les coupes tissulaires, ces AC se fixent spécifiquement sur les sites antigéniques correspondants, qui seront révélés par un deuxième AC polyclonal de chèvre (figure 9).

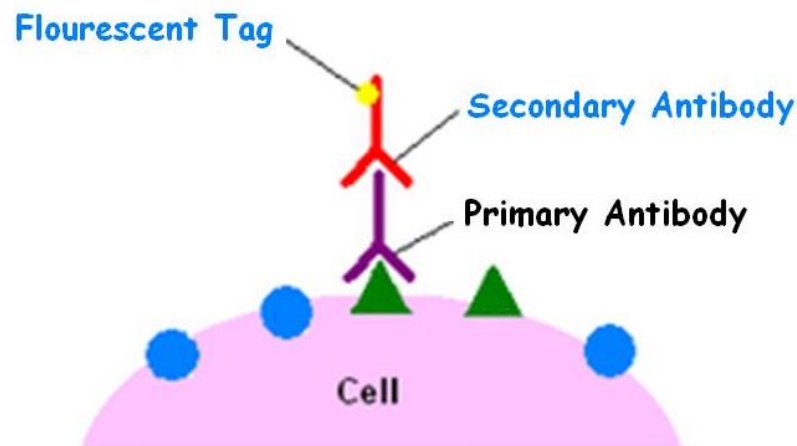


Figure 9 : schéma de la technique immunohistochimique
(<http://sites.lafayette.edu/neur401-sp10/files/2010/04/untitled.jpg>)

Avant de procéder à l'immunomarquage, les coupes histologiques ont subi différents traitements : le déparaffinage, la réhydratation et le démasquage antigénique. Ce dernier est nécessaire, car il permet de rompre les liaisons moléculaires créées par le fixateur et qui modifient la configuration spatiale des épitopes et leur accessibilité aux anticorps. La peroxydase endogène doit être bloquée afin d'éviter sa réaction avec le substrat chromogène, ce qui peut perturber la réaction du marquage. Après ces différents traitements, les coupes histologiques subiront l'immunomarquage et par la fin une contre coloration suivie du montage des lames.

(anexe 7)

L'observation est réalisée à l'aide d'un microscope photonique aux grossissements Gx20 et Gx40 et les photos sont prises à l'aide d'un appareil photos numérique.

Résultats et discussion

Entre septembre 2007 et janvier 2017, 30 cas d'hépatoblastome ont été répertoriés au laboratoire d'anatomie pathologique de CHU Mustapha Bacha.

(Annexe 8) (Tableau I)

III.1. Résultats

III.1.1. Etude descriptive de la série

III.1.1.1. Répartition selon le sexe

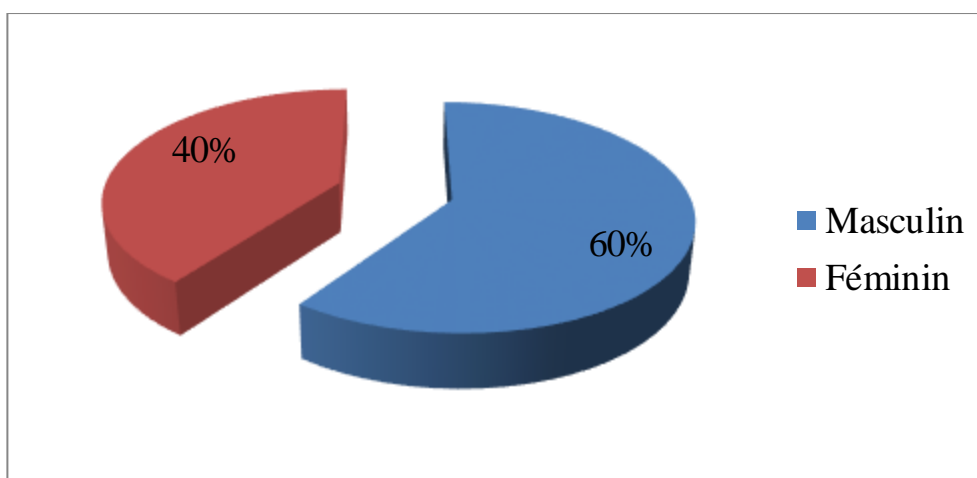


Figure 10 : Répartition des patients selon le sexe

Nos résultats indiqués par la figure 10 et le tableau II (Annexe 8) qui représentent la répartition des patients selon le sexe montrent que :

- Les garçons sont les plus touchés par le HB et ils représentent 18 garçons (60%) en comparaison avec les filles qui représentent 12 filles (40%).
- Donc il y a une prédominance masculine dans la répartition d'HB dans notre série.
- Le sex ratio est 1,5.

III.1.1.2. Répartition selon l'âge

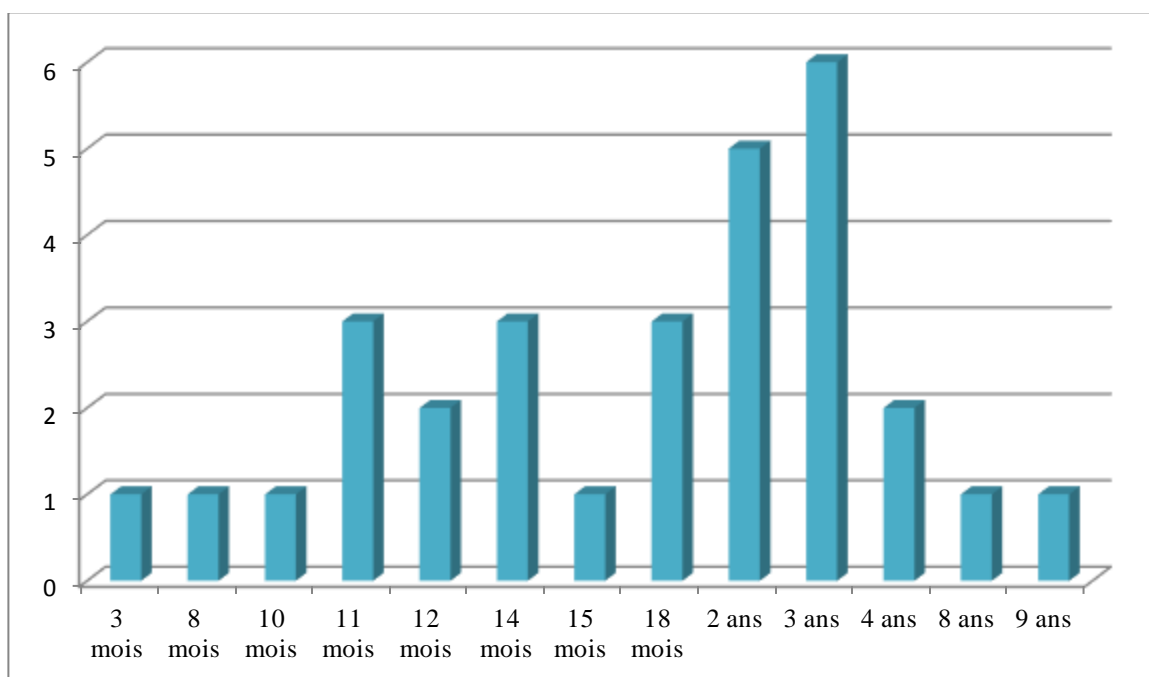


Figure 11 : Répartition des patients selon l'âge chez les deux sexes

Nos résultats indiqués par la figure 11 et le tableau III (Annexe 8) qui représentent la répartition des patients selon l'âge dérivé de 30 cas montent que :

- l'âge moyen au moment du diagnostic est de 2 ans.
- L'hépatoblastome est diagnostiqué chez les très jeunes enfants atteints d'un pic de 6 cas avec un âge de 3 ans.
- L'âge médian de tous les enfants atteints d'hépatoblastome au moment du diagnostic est de 27 mois.
- l'âge le plus âgé est de 9 ans.
- l'âge le plus petit est de 3 mois.
- La plupart des patients (20 sur 30) ont été diagnostiqués avant l'âge de 3 ans.
- Seuls 4 cas d'hépatoblastome sont diagnostiqués chez les enfants > 3 ans (2 cas âgé de 4 ans, un de 8 ans et un de 9 ans).

III.1.2. Etude histologique

III.1.2.1. Répartition d'hépatoblastome selon le type histologique

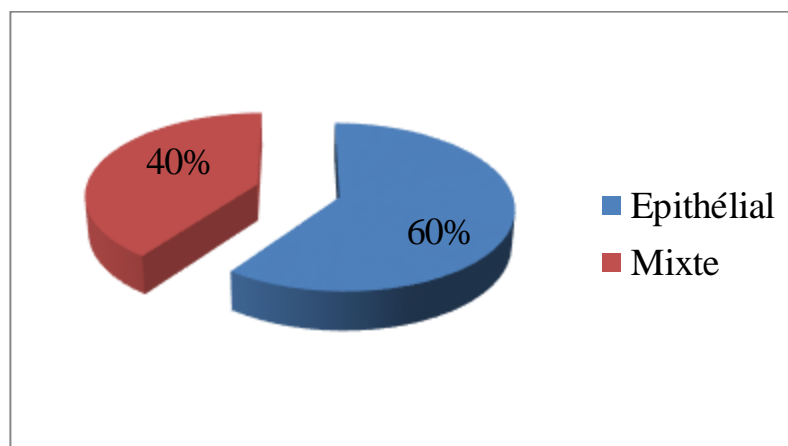


Figure 12 : Répartition d'hépatoblastome selon le type histologique

La répartition selon le type histologique de 30 cas d'HB représentée par la figure 12 et le tableau IV (Annexe 8) montre que :

- L'HB épithélial représente un pourcentage de 60% (18 cas) et l'HB mixte représente un pourcentage de 40% (12 cas).
- Donc il y a une prédominance type épithélial dans l'histologie d'HB.

III.1.2.2. La répartition des sous-types d'hépatoblastome hépithélial

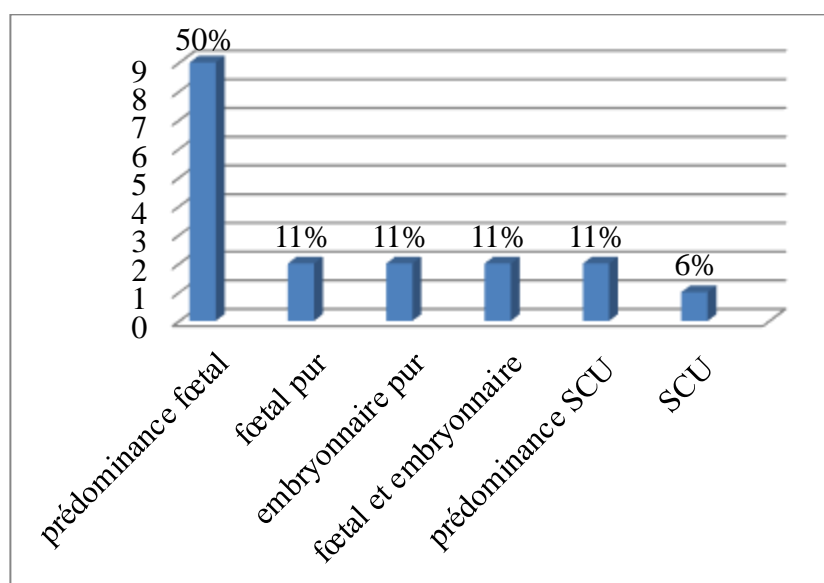


Figure 13 : Composants épithéliaux de spécimens sélectionnés d'hépatoblastome

Résultats et discussion

Les composants épithéliaux des échantillons de HB sélectionnés (18 cas) sont présentés dans la figure 13 et le tableau V (Annexe 8) montrent que :

- le type épithélial à prédominance fœtal prédomine avec un pourcentage 50% .
- les sous-types purs (fœtal et embryonnaire) et mixtes entre ces deux derniers et HB à prédominance SCU vient en deuxième position avec un pourcentage de 11% .
- SCU vient en dernière position avec un pourcentage de 6% .
- Aucun de ces cas n'avait une histologie cholangioblastique.

III.1.2.3. Répartition d'hépatoblastome mixte avec et sans composantes tératoïdes

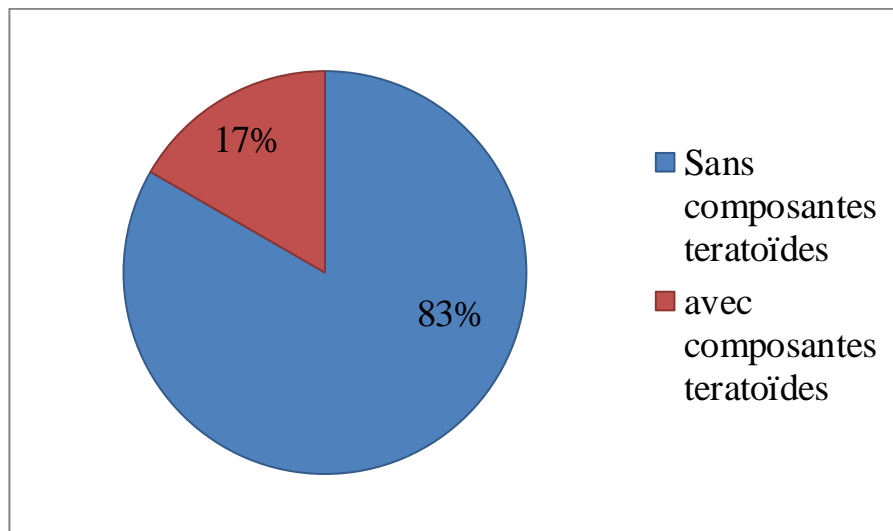


Figure 14 : Répartition d'hépatoblastome mixte avec et sans composantes tératoïdes

Les résultats indiqués par la figure 14 et le tableau VI (Annexe 8) montrent que notre série est caractérisée par une prédominance de HB mixte sans composantes tératoïdes, qui présente un pourcentage de 83%, par rapport au HB mixte avec composantes tératoïdes qui représente que 17%.

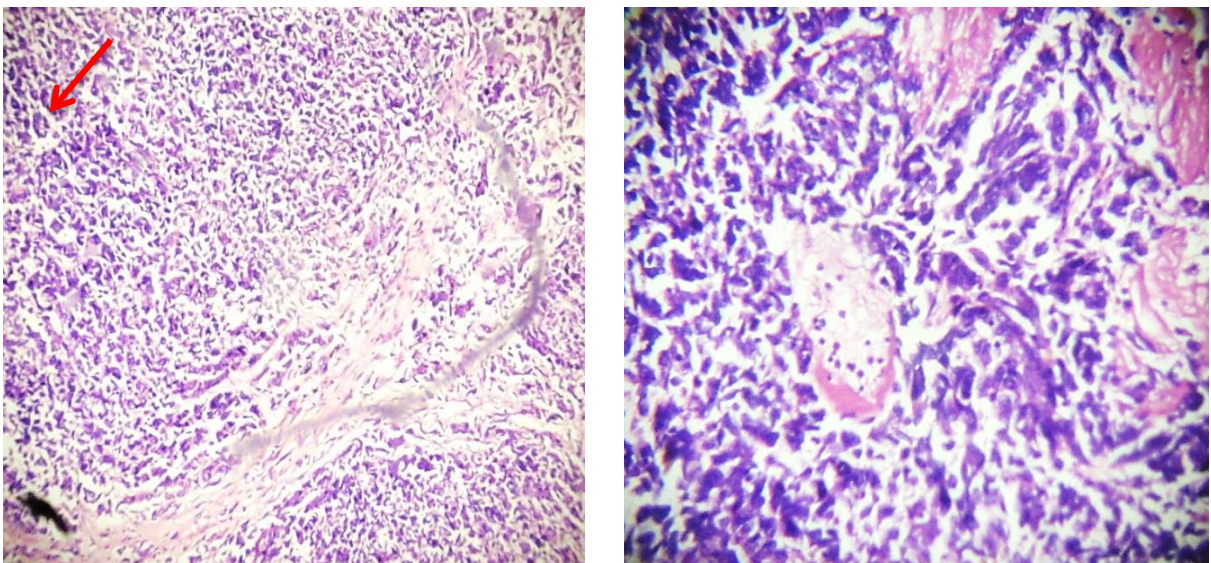
Résultats et discussion

- **Hépatoblastome épithélial de type embryonnaire**

Prolifération néoplasique maligne, faite de lobule séparé par septa de tissus conjonctif.

Des lobules sont composés de plages, de massifs pleins, des travées, des cordons et de structures acinaires séparées par endroits d'une vascularisation grêle de type sinusoïdale.

Les cellules néoplasiques sont à cytoplasme réduit éosinophile à noyau vésiculeux à hyper chromatiques comportant quelques petits nucléoles.



Acinaire : 

**Figure 16 : Hépatoblastome épithélial de type embryonnaire. Coloration: HE;
Grossissement Gr : x10 / Gr : x40.**

- **HB épithélial à cellules indifférenciées prédominantes**

Cette prolifération est faite essentiellement de nappes diffuses de cellules rondes peu cohésives à cytoplasme éosinophile légèrement réduit à noyau arrondi nucléole.

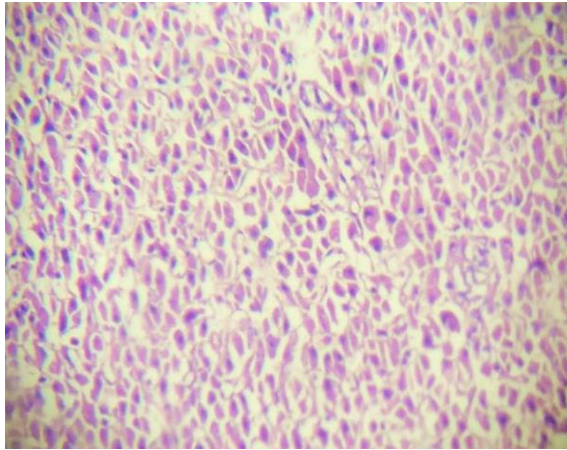


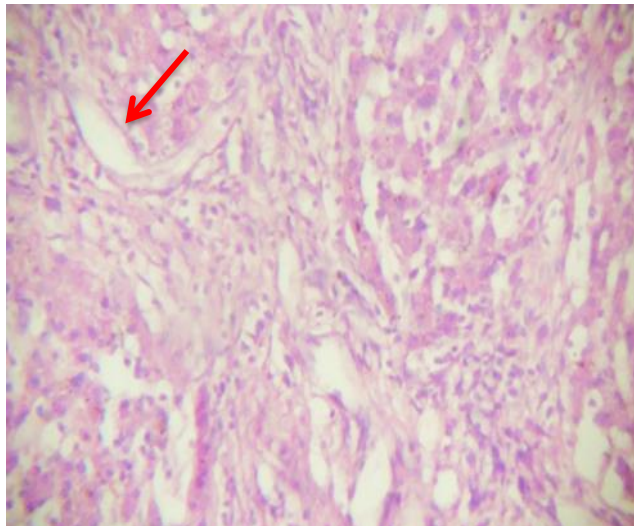
Figure 17 : HB épithélial à cellules indifférenciées prédominantes. Coloration: HE;

Gr : x10.

- **HB épithélial de type foetal**

Des cellules épithéliales jointives, cytoplasme éosinophile ou claire large, noyau rond et central.

Ces cellules forment des lobules séparés par tissus conjonctif lâche et vascularisé.



Vaisseaux lymphatiques : 

Figure 18: HB épithélial de type foetal. Coloration: HE; Gr : x10.

- **Hépatoblastome mixte**

Des cellules épithéliales jointives, cytoplasme éosinophile ou claire large.

Espace inter-lobulaire (espace porte) fibreuse comportant des canaux biliaire.

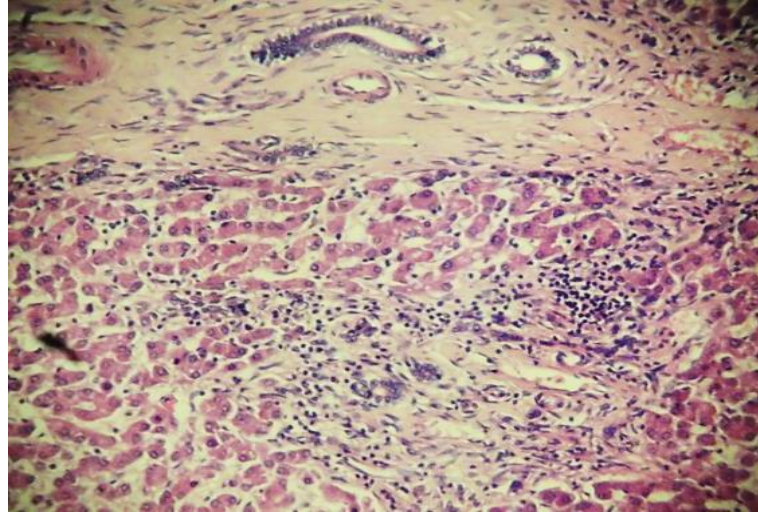


Figure 15: Hépatoblastome mixte. Coloration: HE; Gr : x10.

III.1.3. Etude immunohistochimique

III.1.3.1. Etude immunohistochimique de l'AFP et son dosage sérique

Des résultats d'immunomarquage étaient disponibles pour 11 échantillons de HB en utilisant un anticorps anti AFP. Notre examen a désigné la coloration comme négative ou positive cytoplasmique, focale ou diffuse des cellules tumorales. Aucune coloration des noyaux n'a été observée.

Nos résultats de l'étude immunohistochimique sont mentionnés dans le tableau VII

Tableau VII : Immunomarquage et taux sérique de l'AFP selon le sous-type histologique d'hépatoblastome.

Sous type histologique		Immunomarquage d'AFP	Taux sérique d'AFP
SCU		+++	D Faible
Mixte	Epithélial (macrotrabculaire)	+	Faible
	Mesenchymateux	-	
Foetal pur		++	Très élevé
Embryonnaire pure		+ à +++	Très élevé
Mixte	Epithélial	+	Très élevé
	Teratomateux	-	
Epithélial à prédominance foetal		++	Très élevé
Mixte	Epithélial (foetal)	++	Elevé
	Mesenchymateux	-	
Epithélial (foetal, embryonnaire et macrotrabculaire)		++	Elevé
Epithélial (embryonnaire et foetal)		+	Très élevé
Mixte	Epithélial (embryonnaire)	+	Elevé
	Mesenchymateux	-	
Foetal pur		+++	Très élevé

Résultats et discussion

(+): faible expression, (+ +): expression modérée, (+ + +): forte expression, (-): absence de l'expression. D : diffuse, F : Focale.

Taux sérique d'AFP

A partir des fiches des patients, nous avons trouvé que tous sauf deux patients avaient des taux sériques d'AFP varie entre élevés et très élevés (> 100 ng/ml).

Les deux patients qui avaient un taux sérique d'AFP faible présentent : un a une histologie SCU et l'autre a une histologie mixte épithélial (macrotrabculaire) et mesenchymateux.

Immunohistochimie d'AFP

L'immunomarquage, témoignant l'expression de l'AFP, est positive dans 7 HB soit 69% des cas, et hétérogène dans 4 cas de HB mixte soit 31% ; dont elle est positive dans le type épithélial et négative dans le type mésenchymateux (avec et sans composantes térétoïdes).

Notre étude immunohistochimique a montré une faible expression de l'AFP dans 4 cas : 3 cas du composant épithélial de type mixte (macrotrabculaire, embryonnaire et foetal) et 1 cas de type épithélial (embryonnaire et foetal).

Alors qu'elle est modérée dans 4 cas : 1 cas d'histologie foetal pur, 1 cas d'histologie épithélial à prédominance foetal, 1 cas d'histologie épithélial foetal de type mixte et un cas d'histologie épithélial (foetal, embryonnaire et macrotrabculaire).

L'immunomarquage est plus intense dans le SCU et le type foetal pur qui reflète une forte expression de l'AFP, tandis qu'elle est absent dans les 3 cas de composant mésenchymateux de type histologique mixte avec et sans caractéristique térétoïdes.

A partir de notre résultat d'immunohistochimie, nous avons trouvé qu'à part l'histologie SCU qui presente un immunomarquage d'AFP diffuse, tout les cas présentent un immunomarquage d'AFP focale.

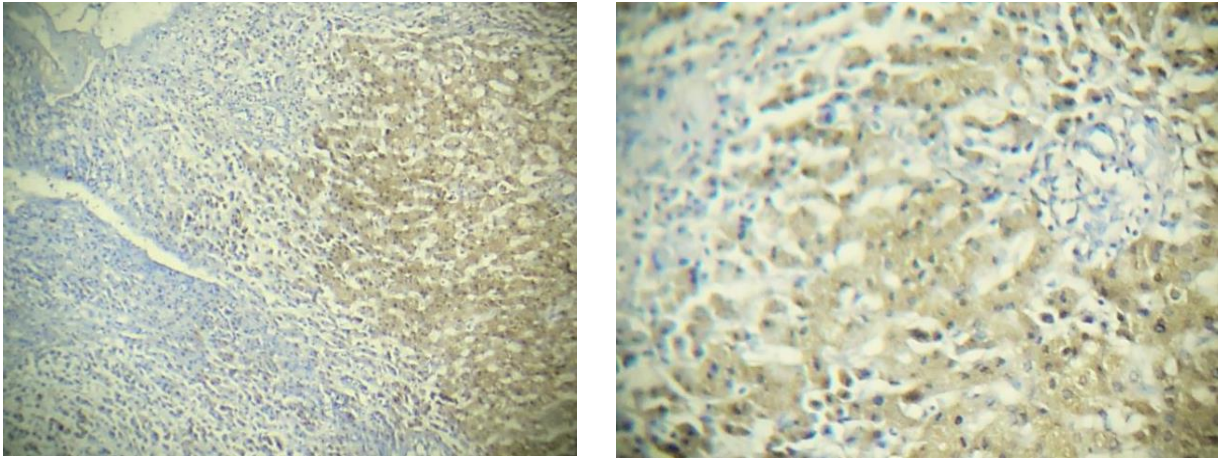


Figure 19 : HB épithélial de prédominance fœtal. Expression modérée focale d'AFP. IHC ; Gr : x10 / x40.

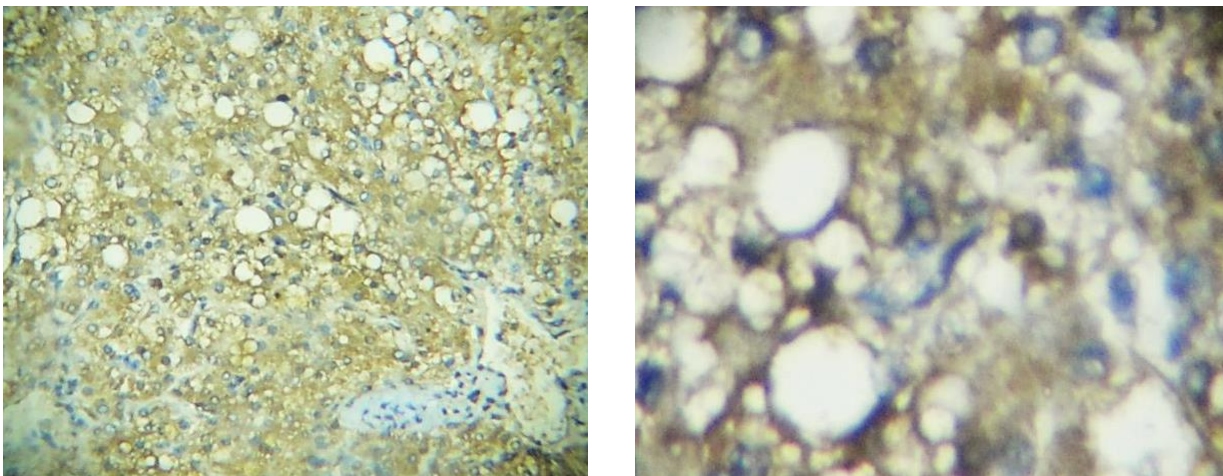
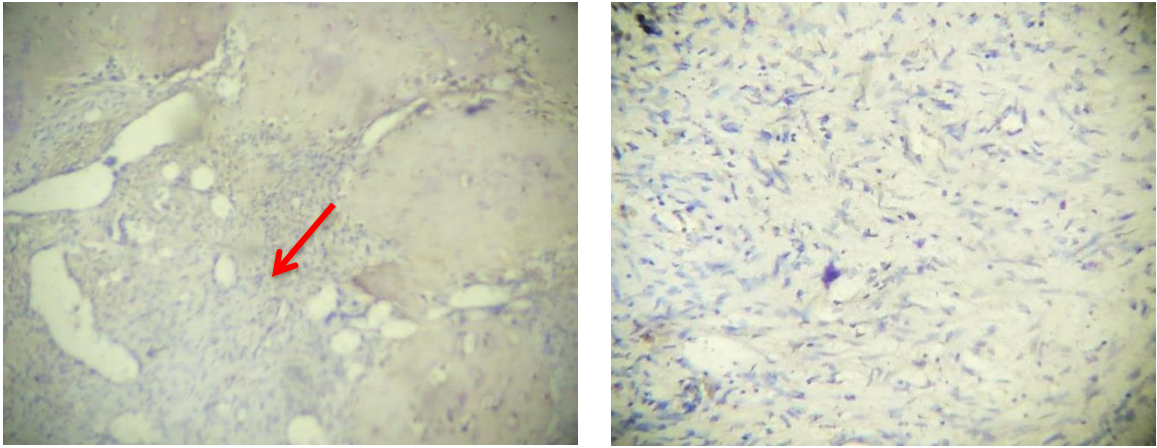


Figure 20 : HB fœtal pur. Expression élevée focale d'AFP. IHC ; Gr : x10 / x40.



Contingent mésenchymateux :

Figure 21 : HB mixte mésenchymateux.

Absence d'expression d'AFP dans le contingent mésenchymateux. IHC ; Gr : x10 / x40.

Résultats et discussion

III.1.3.2. Etude immunohistochimique de la β -caténine

Nos résultats de l'IHC pour la β -caténine ont été regroupés en anormal (toute coloration cytoplasmique, nucléaire ou membrane nucléaire) ou autre (membranaire).

Tableau VIII : Immunomarquage de la β -caténine selon le sous-type histologique d'hépatoblastome.

Sous-type histologique		Localisation et l'intensité de marquage de la β -caténine			
		Membrane	Cytoplasme	Noyau	Membrane nucléaire
Foetal pur		++	++		
Foetal pur		+++			
Epithélial à prédominance foetal		+++	++		
Embryonnaire pur		+	+	+	
Epithélial	Foetal	+			
	Embryonnaire	+			
Epithélial	Foetal	++	++		
	Embryonnaire			++	
	Macrotrabculaire	++	++		
SCU		++			
Mixte	Epithélial macrotrabculaire	++	+		
	Mesenchymateux			+++	
Mixte	Epithélial		++		
	Teratomateux				++ à ++ +
Mixte	Epithélial foetal	++ à +++	++ à +++		
	Mesenchymateux			++	
Mixte	Epithélial (embryonnaire)	+++		+++	
	Mesenchymateux	-	-	-	-

Résultats et discussion

Les niveaux relatifs d'expression des protéines basés sur des études immunohistochimiques sont indiqués avec le système de notation suivant: (-): pas d'expression détectable, (+): expression faible, (+ +): expression modérée, expression t élevée :(+ + +)

Notre résultat d'immunomarquage de la β -caténine montre qu'il y a une hétérogénéité dans la localisation et l'intensité de la β -caténine au sein de la même tumeur.

On a fait l'immunomarquage de la β -caténine pour 7 cas d'histologie épithélial avec différents sous-types :

- Dans le sous-type fœtal, l'accumulation membranaire et/ou cytoplasmique de la β -caténine est détectée avec des intensités de coloration variables (faible, modérée et élevée).
- Dans le sous-type embryonnaire, on trouve que l'accumulation membranaire / cytoplasmique / nucléaire de la β -caténine a été détectée avec des intensités de coloration variables (faible, modérée et élevée).
- Le sous-type macro-trabéculaire : l'accumulation membranaire et cytoplasmique de la β -caténine est modérée.
- Le composant SCU présente une accumulation membranaire modérée de la β -caténine.

Pour les 04 cas qui présentent une histologie mixte, on a trouvé :

- HB mixte 1 : le composant macro-trabéculaire présente une accumulation membranaire modérée et une faible accumulation cytoplasmique, tandis que le composant mésenchymateux présente une accumulation nucléaire élevée.
- HB mixte 2 : le composant épithélial présente une accumulation cytoplasmique modérée, alors que le composant mésenchymateux qui contient des éléments tératoïde est le seul cas que l'on trouve au niveau de la membrane nucléaire avec une intensité de coloration varié entre modérée et élevée.
- HB mixte 3 : le contingent épithélial fœtal présente une hétérogénéité cytoplasmique et membranaire avec intensité de coloration variée de modérée à élever. Pour le contingent mésenchymateux, il présente une accumulation nucléaire modérée.
- HB mixte 4 : le composant embryonnaire présente une forte intensité membranaire et nucléaire, alors qu'aucun immunomarquage n'a été détecté dans le composant mésenchymateux.

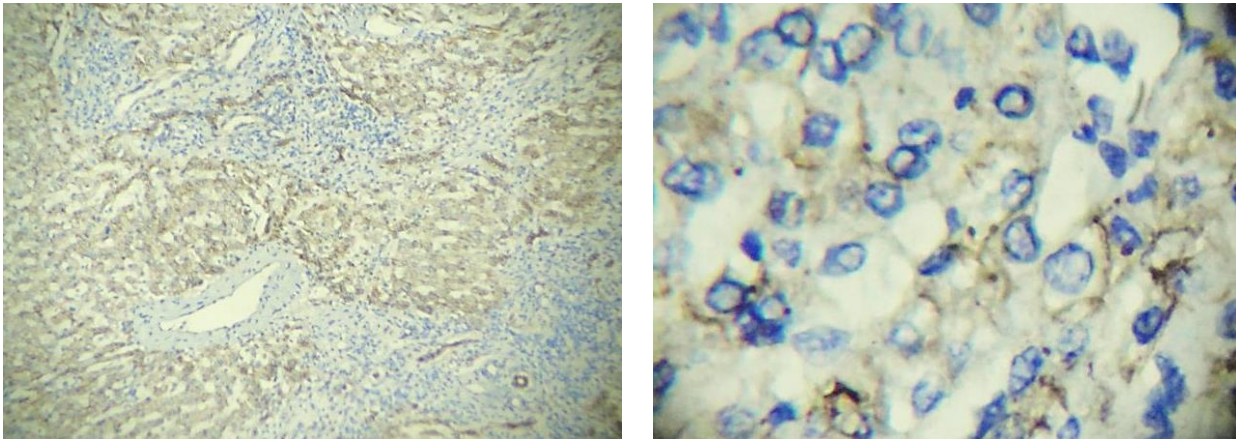


Figure 22 : HB foetal. Accumulation membranaire et cytoplasmique de la β -caténine avec intensité modérée. IHC ; Gr : x10 / x40.

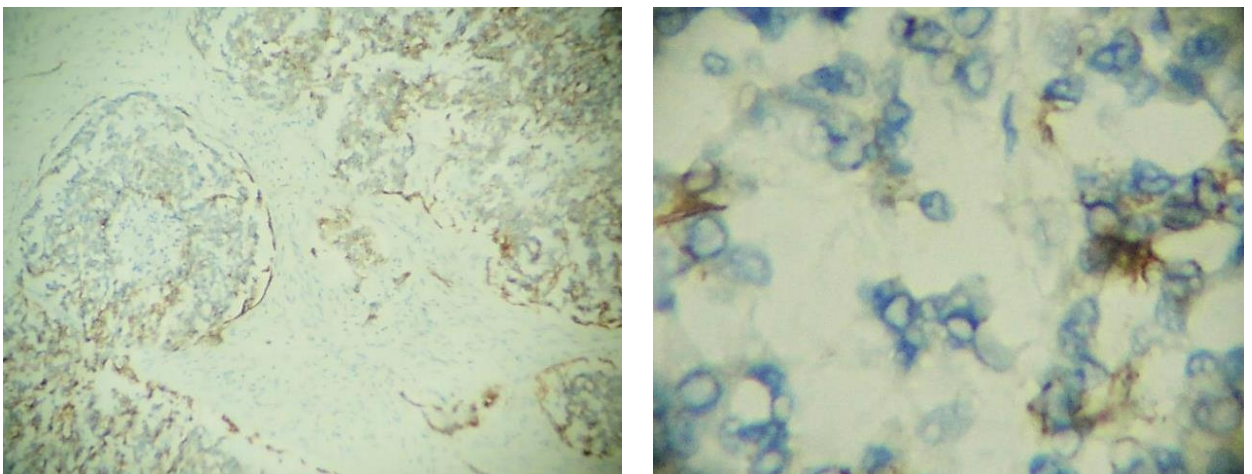


Figure 23 : HB embryonnaire, accumulation membranaire / cytoplasmique de la β -caténine avec intensité faible. IHC ; Gr : x10 / x40.

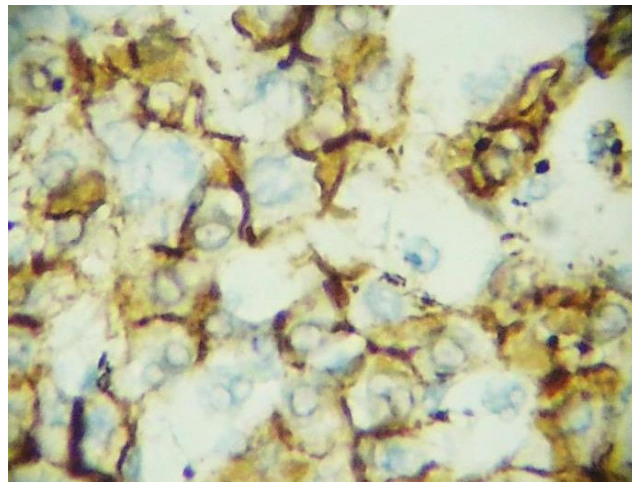
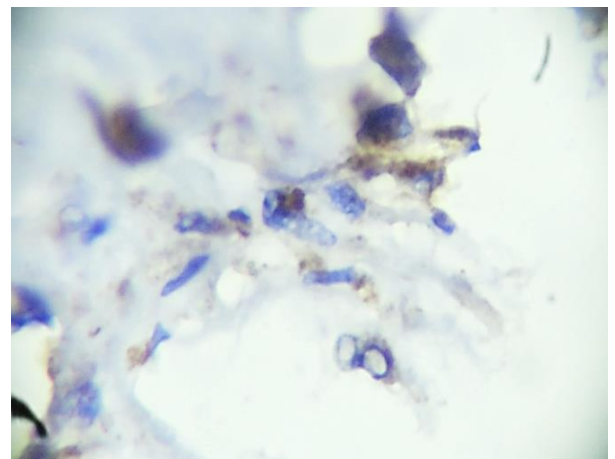
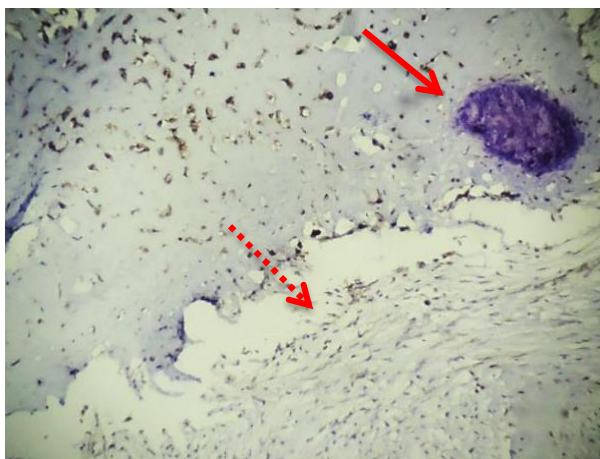


Figure 24 : HB mixte. Le composant macro-trabéculaire : accumulation membranaire de la β -caténine avec intensité modérée. IHC ; Gr : x40.



Tissus mésenchymateux :

. Calcification :

Figure 25 : HB mixte. Le composant embryonnaire : accumulation membranaire et nucléaire avec intensité modérée. Le composant mésenchymateux : faible intensité. IHC ; Gr : x10 / x40.

III.2. Discussion

Cette présente étude a pour but d'étudier l'aspect morphologique et moléculaire de l'hépatoblastome (HB), en particulier le rôle de l'activation anormale de la voie Wnt/ β -caténine, la localisation de la β -caténine et son intensité dans les différents sous-types histologiques (par immunomarquage), ainsi que la corrélation des taux sériques de l'AFP avec son intensité (par marquage immunohistochimique) et avec les sous-types histologiques. Les résultats obtenus sont discutés sur la base des données bibliographiques.

Durant une période de dix ans, allant de septembre 2007 à janvier 2017, nous avons collecté uniquement 30 cas de HB. La rareté de cette maladie est également mentionné par Zimmermann (2005), Salvatore *et al.*(2015) et Bell *et al.*(2017).

L'étiologie reste largement inconnue, il existe des facteurs de prédisposition génétique. Le HB peut survenir dans le cadre de plusieurs syndromes de susceptibilité tel que le BWS, la PAF, le syndrome de Li Fraumeni et la trisomie 18 (Justine *et al.*, 2016). Des facteurs de risques environnementaux ont également été identifiés (Von Schweinitz, 2012). D'après les fiches des patients, nous n'avons enregistré aucun antécédent particulier dans notre série de 30 cas.

Dans notre série, nous avons enregistré une prédominance masculine représentée par 18 cas soit 60% et 12 cas féminin soit 40%, cette prédominance est aussi notée par Singh *et al.*(2010) et Sharma *et al.*(2017). Le sex-ratio est de 1.5 comme celui rapporté par Horton *et al.*(2009). Il est moins faible par rapport à celui rapporté dans l'étude de De Ioris *et al.*(2008) où il atteint la valeur de 2,5. Litten et Tomlinson (2008) attribuent cette prédominance masculine à des raisons mal comprises.

Dans notre série, l'âge moyen au moment du diagnostic est de 2 ans, il est élevé par rapport à celui rapporté dans l'étude de Ochi *et al.*,(2015) et celle de Zourk (2015). Le pic de fréquence est de 3 ans. Par contre l'étude de Litten et Tomlinson (2008) rapporte que le pic touche les enfants très jeunes dans la période du nouveau-né. Par ailleurs, Sharma *et al.*,(2017) montrent que la majorité des cas présente un âge de 5 ans au moment du diagnostic.

La plupart des patients (67%) ont été diagnostiqués avant l'âge de 3 ans avec un âge médian de 27 mois. Notre résultat est semblable à celui obtenu dans l'étude de Buendia (2002) et celle de Ismail *et al.*, (2012). Par ailleurs, l'âge médian est de 18 mois dans l'étude de Litten et Tomlinson (2008) ainsi que celle de Allan *et al.*,(2013).

Résultats et discussion

Sur le plan histologique, le HB épithélial est prédominant avec un pourcentage de 60%, par rapport au HB mixte qui représente un pourcentage de 40%. Nos résultats sont comparables à ceux obtenus par Herzog *et al.*, (2000), Salam *et al.*,(2009), Tizniti et Gane Mbengue (2009) et Zourk (2015). Le sous-type fœtal est majoritaire dans notre étude ; il représente 61% de l'ensemble des HB épithéliaux. En ce qui concerne le HB embryonnaire, il ne représente que 11%, le même pourcentage pour le HB mixte entre les 2 sous-types mentionnés précédemment et pour le HB épithélial à prédominance SCU. Le SCU pur présente un pourcentage de 6%. Ces résultats sont comparables à ceux de Taque *et al.*, (2013), Garnier *et al.*,(2016) et Vokuhl *et al.*,(2016). Dans notre étude, nous avons trouvé que la majorité des HB mixte sont présentés sans éléments tératoïdes (83%), alors que les 17% qui restent sont présentés avec des éléments tératoïdes. Cette prédominance de HB mixte sans éléments tératoïdes est aussi notée par Fabre *et al.*(2004) et Armengol *et al.*,(2005).

L'analyse des deux biomarqueurs l'AFP et la β -caténine peut être utile dans la classification histologique de cette tumeur complexe et aussi dans la compréhension des voies biologiques impliquées dans la tumorigénèse de HB. Dans ce contexte, nous avons essayé de tester l'hypothèse selon laquelle des protéines spécifiques impliquées dans la biologie du HB seraient différenciellement exprimées. Nous avons également cherché à déterminer si ces protéines pouvaient différencier les sous-types histologiques.

Le dosage sérique d'AFP est l'examen essentiel pour le diagnostic de HB. Il est élevé dans plus de 90% des cas de HB (Meyers, 2007 ; Spyridakis *et al.*, 2014 ; Justin *et al.*, 2016). Lorsqu'il est élevé au moment du diagnostic, ce marqueur tumoral sérique est une excellente aide au diagnostic, à la surveillance de la réponse au traitement et, surtout, à la détection précoce de la récurrence tumorale (Otte, 2010). Un faible taux sérique d'AFP (<100 ng / ml) est un facteur de mauvais pronostic (Hiyama, 2014 ; Indersie, 2016). Nous avons trouvé dans notre étude qu'il est élevé dans 82% (9/11), et qu'il est faible (<100 ng/ml) dans 18% des cas de HB (2/11). Un cas présentant l'histologie SCU indique qu'il a un mauvais pronostic. Nos résultats sont en accord avec ceux de Katherine *et al.*,(2012) et Zhou *et al.*, (2015). L'autre cas qui présente un faible taux sérique d'AFP a une histologie mixte, c'est probablement due à la présence d'une métastase.

D'après nos résultats mentionnés précédemment, nous avons remarqué qu'il existe une corrélation entre le taux sérique d'AFP et les sous-types histologiques de HB. Ce qui est en accord avec les travaux de De Ioris *et al.*, (2008).

Résultats et discussion

L'immunomarquage de l'AFP est plus susceptible d'être positif dans les zones de HB épithélial (69%) avec différentes intensités, et négatif dans le tissu mésenchymateux avec et sans caractéristiques tératoïdes (31%). Nos observations sont semblables à ceux obtenus par Sharma *et al.*, (2017), sauf en ce qui concerne les zones SCU ; ils ont trouvé qu'elles sont négatives.

Selon nos résultats d'immunohistochimie, nous avons trouvé qu'à part l'histologie SCU qui présente un immunomarquage d'AFP diffuse, tous les cas présentent un immunomarquage d'AFP focale. Fabre *et al.*, (2004) s'accordent avec nos résultats, tandis que Abenoza *et al.*, (1987) rapportent qu'il est focale dans les deux sous-types : fœtal et embryonnaire.

D'après notre étude, nous avons remarqué qu'il n'existe aucune corrélation entre le taux sérique d'AFP au moment du diagnostic et son expression dans les tumeurs étudiées. Purcell *et al.*, (2012) trouvent les mêmes résultats.

La β -caténine est le médiateur critique de la voie canonique de Wnt. Cette protéine est directement impliquée dans l'expression des gènes et l'adhésion cellulaire. L'aberration de la voie Wnt / β -caténine a été impliquée dans de nombreux cancers et l'accumulation de β -caténine semble être un événement crucial dans la tumorigénèse de HB (Armengol *et al.*, 2011 ; Ma *et al.*, 2015). Les anomalies de la β -caténine perturbent les sites de phosphorylation pour GSK3 β et stimulent leur accumulation cellulaire et leur translocation nucléaire. La β -caténine nucléaire pourrait stimuler la transactivation des promoteurs de la cycline D1 et de la fibronectine et améliorer la progression du HB (Takayasu, 2001 ; Buendia, 2002).

La β -caténine a été immunohistochimiquement identifiée dans la membrane cellulaire des composants cellulaires bien différenciés à des niveaux modérés comme cela a été observé dans les tissus hépatiques normaux, alors qu'elle était fortement identifiée dans les noyaux des composants cellulaires mal différenciés (Takayasu, 2001).

L'immunomarqueur β -caténine a été étudié comme outil auxiliaire dans le diagnostic de HB (Zhou *et al.*, 2015). Notre étude immunohistochimique de la β -caténine a été réalisée sur 11 cas de HB dont l'immunomarquage était positif sauf dans un seul cas d'histologie mixte; il est négatif dans le contingent mésenchymateux.

L'étude de Buendia, (2002) et celle de Zhou *et al.*, (2015) s'accordent sur la forte coloration membranaire prédominante dans les composants fœtaux et cytoplasmique avec une coloration nucléaire et membranaire dans les composants embryonnaires. De même, Bell *et al.*, (2017) trouvent que l'accumulation de β -caténine est nucléaire et cytoplasmique ce qui diffère à nos résultats. Nous avons pensé que l'accumulation nucléaire de la β -caténine pourrait être prédictive d'un mauvais pronostic.

Résultats et discussion

Contrairement à nos résultats qui indiquent une coloration membranaire et cytoplasmique modérée dans le composant macro-trabéculaire, Buendia, (2002) trouve une forte coloration nucléaire. Concernant le composant SCU, notre résultat immunohistochimique montre que la coloration membranaire modérée ne s'accorde pas avec les résultats de Buendia, (2002) ; Zhou *et al.*, (2015) et Bell *et al.*, (2017).

L'étude de Sharma *et al.*,(2017) rapporte une forte coloration nucléaire dans le contingent mésenchymateux. Nous avons observé les mêmes résultats sauf qu'un seul cas qui ne présente aucune coloration de la β -caténine, il pourrait être possible qu'il existe une altération au niveau d'autres gènes impliqués dans la voie de signalisation Wnt / β -caténine, telles que APC, GSK3 β et Axin. Pour les zones tératoïdes, la coloration est présente à la membrane nucléaire avec une intensité faible à modérée, contrairement au résultat mentionné dans l'étude de Sharma *et al.*, (2017).

CONCLUSION

Notre étude à portée sur un échantillon de 30 patients atteints d'hépatoblastome dans le service d'Anatomie Pathologique du CHU Mustapha Bacha.

On étudiant l'aspect morphologique et moléculaire de HB ; nous avons essayé d'évaluer l'expression de l'AFP dans le diagnostic des différents sous-types histologiques de HB. Chercher d'une part une éventuelle corrélation entre l'expression de l'AFP et leurs sous-types histologiques et d'autre part la corrélation entre l'expression de cette protéine et leur taux sérique. Nous avons aussi essayé de chercher la localisation de la β -caténine et son intensité dans les différents sous-types histologiques afin de détecter le type de l'accumulation au niveau des cellules tumorales.

Les résultats obtenus ont démontré que le HB est une tumeur rare survenant surtout chez le petit enfant (avant le 3 ans), avec une prédominance de sexe masculin. Il provient d'hépatoblastes primaires et probablement de cellules souches hépatiques encore moins différenciées ou de hFLMPC.

La plupart des HB sont sporadiques, mais certains sont associés à des anomalies et à des malformations génétiques constitutionnelles.

Dans l'hépatoblastome, le type histologique dominant est l'épithélial par rapport au type mixte. Par ailleurs, Les résultats obtenus pour le dosage sérique d'AFP indiquent qu'il est corrélé avec les sous-types histologiques. Notant que le dosage sérique d'AFP est élevé dans plus de 90% des cas de différentes classifications histologique, tandis qu'il est faible (<100 ng / ml) dans les cas qui présente une histologie SCU, Ce faible taux sérique d'AFP est un signe d'un mauvais pronostic.

Les résultats obtenus par l'immunomarquage de l'AFP montrent que les zones de HB épithélial sont positives dans 69% des cas, et négatives dans le tissu mésenchymateux dans 31% des cas. Ces résultats indiquent qu'il n'existe aucune corrélation entre le taux sérique d'AFP au moment du diagnostic et son expression dans les tumeurs étudiés. Concernant l'immunomarquage de la β -caténine, les résultats montrent qu'il est positif dans la majorité des cas ce qui indique son importance dans la tumorigénèse de HB. Donc la β -caténine est utile axillaire dans le diagnostic et peut être utilisé comme un cible thérapeutique.

Cette étude a plusieurs limites qui nous empêchent d'avoir des conclusions finales : même si cette étude couvre un délai de 10 ans (2010-2017), avec des cas rétrospectifs, qui sont souvent limités par le manque des base des données, et le manque du suivi des patients d'une part, et d'un part notre série reste modeste.

La voie de Wnt / β -caténine représente une cible potentielle majeure en oncologie. Ce qui nécessite des recherches concernant les développements pharmacologiques ciblés.

Dans cette optique, il nécessite des études consiste la synthèse d'anticorps dirigés contre les ligands Wnt ou contre les récepteurs FZD. Au niveau des petites molécules, une approche peut être le ciblage des complexes transcriptionnels TCF / β -caténine.

D'autres études sont nécessaires pour mieux comprendre la relation qui existe entre l'expression du β -caténine et la nouvelle molécule Yap ; pour cela il faudrait un échantillon de patient plus représentatif et un suivi de l'hépatoblastome en soulignant le schéma thérapeutique utilisé.

Les progrès en biologie moléculaire ont amélioré la compréhension de ces tumeurs permettant ainsi dans le futur une thérapie adéquate de ces hépatoblastomes allant au-delà de la simple résection chirurgicale ce qui amènera à une meilleure survie des patients.

Références bibliographiques

Abenzoza P., Manivel J.C., Wick M.R., Hagen K., Dehner L.P. (1987). Hepatoblastoma: an immunohistochemical and ultrastructural study. *Human pathology.*, **18(10)**. pp : 1025-1035.

Adem C., Petit T. (2014). *Mémento de Pathologie.* pp : 127-127.

Adesina AM., Lopez-Terrada D., Wong KK., Gunaratne P., Nguyen Y., Pulliam J., Margolin J., Finegold M.J. (2009). Gene expression profiling reveals signatures characterizing histologic subtypes of hepatoblastoma and global deregulation in cell growth and survival pathways. *Human pathology.*, **40(6)**. pp : 843-853.

Allan B.J., Parikh P.P., Diaz S., Perez E.A., Neville H.L., Sola J.E. (2013). Predictors of survival and incidence of hepatoblastoma in the paediatric population. *International Hepato-Pancreato-Biliary Association.*, **15(10)**. pp : 741-746.

Ansell P., Mitchell C.D., Roman E., Simpson J., Birch J.M., Eden T.O.B. (2005). Relationships between perinatal and maternal characteristics and hepatoblastoma : a report from the UKCCS. *Eur. J. Cancer.*, (41). pp : 741-748.

Armengol C., Cairo S., Fabre M., Buendia M.A. (2011). Wnt signaling and hepatocarcinogenesis: The hepatoblastoma model. *The international journal of biochemistry & cell biology.*, **43(2)**. pp: 265-270.

Armengol C., Cairo S., Fabre M., Renard C.A., Brugières L., Laithier, V., Buendia M.A. (2005). CA3-Classification de l'hépatoblastome par étude en microarray du profil d'expression génétique. *Gastroentérologie Clinique et Biologique.*, **29(8-9)**. pp : 901-901.

Beaugerie L., Sokol H. Les fondamentaux de la pathologie digestive. Partie I : Les organes - Chapitre 6 : Foie-Voies biliaires. (2014). Editions Elsevier-Masson. pp : 1-39.

Bell D., Ranganathan S., Tao J., Monga S.P. (2017). Novel Advances in Understanding of Molecular Pathogenesis of Hepatoblastoma: A Wnt/ β -Catenin Perspective. *Gene expression.*, **17(2)**. pp : 141-154.

Bourroul G.M., Fragoso H.J., Gomes J.W.F., Bourroul V.S.O., Oshima C.T.F., Gomes T.S., Waisberg J. (2016). The destruction complex of beta-catenin in colorectal carcinoma and colonic adenoma. *Einstein (São Paulo).*, **14(2)**. pp : 135-142.

Buendia M.A. (2002). Genetic Alterations in Hepatoblastoma and Hepatocellular Carcinoma: Common and Distinctive Aspects. *Pediatric Blood & Cancer.*, **39(5)**. pp: 530-535.

Références bibliographiques

Cairo S., Armengol C., Reyniès A.D., Wei Y., Thomas E., Renard C.A., Goga A., Balakrishnan A., Semeraro M., Gresh L., Pontoglio M., Strick-Marchand H., Levillayer F., Nouet Y., Rickman D., Gauthier F., Branchereau S., Brugières L., Laithier V., Bouvier R., Boman F., Basso G., Michiels JF., Hofman P., Arbez-Gindre F., Jouan H., Rousselet-Chapeau M.C., Berrebi D., Marcellin L., Plenat F., Zachar D., Joubert M., Selves J., Pasquier D., Bioulac-Sage P., Grotzer M., Childs M., Fabre M., Buendia M.A. (2008). Hepatic Stem-like Phenotype and Interplay of Wnt/b-Catenin and Myc Signaling in Aggressive Childhood Liver Cancer. *Cancer cell.*, **14(6)**. pp: 471-484.

Castaing D., Veilhan L.A. (2006). Anatomie du foie et des voies biliaires. *Liver and biliary tract anatomy Techniques chirurgicales-Appareil digestif.*, pp : 40-760.

Castaing D., Veilhan L.A. (2008). Anatomie du foie et des voies biliaires. *Liver and biliary tract anatomy Techniques chirurgicales-Appareil digestif.*, **7**. pp : 1-10.

Chorfi H. (2013). le profil épidémiologique des tumeurs solides malignes de l'enfant (A propos de 43 cas). Université Sidi Mohammed Ben Abdellah. Faculté de médecine et de pharmacie. FES, pp : 1-188.

Ciacio O., Castaing D. (2015). Le Foie et les Voies biliaires : anatomie. Centre Hépatobiliaire Paul Brousse. pp : 12-14.

Czauderna P., Lopez-Terrada D., Hiyama E., Haberle B., Malogolowkin M.H., Meyers R.L. (2014). Hepatoblastoma state of the art: pathology, genetics, risk stratification, and chemotherapy. *Current opinion in pediatrics.*, **26(1)**. pp: 19-28.

Davenport K.P., Blanco F.C., Sandler A.D. (2012). Pediatric Malignancies Neuroblastoma, Wilm's Tumor, Hepatoblastoma, Rhabdomyosarcoma, and Sacroccygeal Teratoma. *Surgical Clinics of North America.*, **9(3)**. pp : 745-767.

Davenport K.P., Blanco F.C., Sandler A.D. (2012). Pediatric malignancies: neuroblastoma, Wilm's tumor, hepatoblastoma, rhabdomyosarcoma, and sacroccygeal teratoma. *Surgical Clinics of North America.*, **92(3)**. pp : 745-767.

De Ioris M., Brugières L., Zimmermann A., Keeling J., Brock P., Maibach R., Pritchard J., Shafford L., Zsiros J., Czauderna P., Perilongo G. (2008). Hepatoblastoma with a low serum alpha-fetoprotein level at diagnosis: The SIOPEL group experience. *European journal of cancer.*, **44(4)**. pp:545-550.

Références bibliographiques

Debuire B., Lemoine A., Saffroy R. (2002). CTNNB1 (catenin, beta-1).

Denis I., Beaudonnet A., Pichot J., Roubille M., Gelineau M.C. (2000). Mise au point d'une méthode de dosage de l'alpha-fœtoprotéine fucosylée et évaluation dans le diagnostic biologique du carcinome hépatocellulaire sur cirrhose. In *Annales de Biologie Clinique.*, **58(1)**. pp : 85-90.

El Alaoui H. (2015). Les localisations abdomino-pelviennes des cancers chez l'enfant. Université Mohammed V-RABAT. Faculté de médecine et de pharmacie-RABAT, pp : 1-222.

Elmarzguioui N. (2009). La péliose hépatique: a propos d'une observation avec revue de littérature. Université Mohammed V-Souissi-Faculté de médecine et de pharmacie –Rabat.

Fabre M., Yilmaz F., Buendia M.A. (2004). Les tumeurs hépatiques de l'enfant: expérience a propos de 245 tumeurs et revue de la littérature. In *Annales de Pathologie.*, **24(6)**. pp : 536-555.

Finegold M.J., Egler RA., Goss JA., Paul Guillerman R., Karpen S.J., Krishnamurthy R., O'Mahony C.A. (2008). Liver Tumors: Pediatric Population. *Liver Transplantation.*, **14(11)**. 1545-1556.

Franchi-Abella S., Pariente D. (2005). Tumeurs hépatiques de l'enfant : approche par l'imagerie Imaging. *EMC-Radiologie.*, **2(6)**. pp : 617-636.

Garnier A., Ilmer M., Kappler R., Berger M. (2016). Therapeutic Innovations for Targeting Hepatoblastoma. *Anticancer research.*, **36(11)**. pp : 5577-5592.

Guo F., Ru Q., Zhang J., He S., Yu J., Zheng S., Wang J. (2017). Inflammation factors in hepatoblastoma and their clinical significance as diagnostic and prognostic biomarkers. *Journal of Pediatric Surgery.*

Gupta K., Rane S., Das A., Marwaha R.K., Menon P., Rao K.L.N. (2012). Relationship of β -Catenin and Postchemotherapy Histopathologic Changes With Overall Survival in Patients With Hepatoblastoma. *Journal of pediatric hematology/oncology.*, **34(8)**. pp: 320-328.

Haas J.E., Muczynski K.A., Krailo M., Ablin A., Land V., Vietti T.J., Denman Hammond G. (1989). Histopathology and prognosis in childhood hepatoblastoma and hepatocarcinoma. *Cancer.*, **64(5)**. pp : 1082-1095.

Références bibliographiques

Hadzic N., Finegold M.J. (2011). Liver Neoplasia in Children. *Clinics in liver disease.*, **15(2)**. pp : 443-462.

Herzog C.E., Andrassy R.J., Eftekhari F. (2000). Childhood Cancers: Hepatoblastoma. *The oncologist.*, **5(6)**. pp : 445-453.

Hilali M., Talha H., Nour M., Oulahyane R., Kisra M., Abdelhak M., Benhmamouch M. (2014). Hépatoblastome chez l'enfant à propos de 16 cas opérés. *Archives de pédiatrie.*, **21**. pp : 333-990.

Hilali M., Talha H., Nour M., Oulahyane R., Kisra M., Abdelhak M., Benhmamouch M. (2014). SFCP P-047 - Hépatoblastome chez l'enfant à propos de 16 cas opérés. *Archives de Pédiatrie.*, **21(5)**. pp : 503-503.

Hind C. (2013). Le profil épidémiologique des tumeurs solides malignes de l'enfant (a propos de 43 cas). Université Sidi Mohammed Ben Abdellah Fes, pp : 1-188.

Hiyama E. (2014). Pediatric hepatoblastoma: diagnosis and treatment. *Translational pediatrics.*, **3(4)**. pp : 293-299.

Horton J.D., Lee S., Brown S.R., Bader J., Meier D.E. (2009). Survival trends in children with hepatoblastoma. *Pediatric surgery international.*, **25(5)**. pp : 407-412.

Indersie E. (2016). Nouveau modèle d'étude de l'hépatoblastome in vivo et identification de microARNs régulateurs de la β -caténine. Université de Bordeaux, pp : 1-446.

Ismail H., Broniszczak D., Kaliciński P., Dembowska-Bagińska B., Perek D., Teisseyre J., Kluge P., Kościeszka A., Lembas A., Markiewicz, M. (2012). Changing treatment and outcome of children with hepatoblastoma : analysis of a single center experience over the last 20 years. *Journal of pediatric surgery.*, **47(7)**. 1331-1339.

Justine D., Céline G., Anais R. (2016). Néphroblastome et hépatoblastome. pp : 1-15.

Lazar A.J., Calonje E., Grayson W., Dei Tos A.P., Mihm M.C., Redston M., McKee P.H. (2005). Pilomatrix carcinomas contain mutations in CTNNB1, the gene encoding β -catenin. *Journal of cutaneous pathology.*, **32(2)**. pp : 148-157.

Litten J.B., Tomlinson G.E. (2008). Liver Tumors in Children. *The oncologist.*, **13(7)**. pp : 812-820.

Références bibliographiques

López-Terrada D., Alaggio R., De Dávila M.T., Czauderna P., Hiyama E., Katzenstein H., Leuschner I., Malogolowkin M., Meyers R., Ranganathan S., Tanaka Y., Tomlinson G., Fabre M., Zimmermann A., Finegold M.J. (2014). Towards an international pediatric liver tumor consensus classification: proceedings of the Los Angeles COG liver tumors symposium. *Modern pathology.*, **27(3)**. 472.

Lüllmann-Rauch R. (2008). 1^{er} cycle des études médicales. *Histologie.*, pp : 408-408.

Ma W., Yang J., Gao Y., Luo T., Cheng J.R., Wang D.Y., Guo J., LI L. (2015). Expression pattern of β -catenin during the development of human fetal spinal cord. *Rom J Morphol Embryol.*, **56(2)**. pp : 697-701.

Meyers R.L. (2007). Tumors of the liver in children. *Surgical oncology.*, **16(3)**. pp : 195-203.

Meyers R.L., Rowland J.R., Krailo M., Chen Z., Katzenstein H.M., Malogolowkin M.H. (2009). Predictive power of pretreatment prognostic factors in children with hepatoblastoma : *A report from the Children's Oncology Group. Pediatr. Blood Cancer.*, **53**. pp : 1016-1022.

Mokkapati S., Niopek K., Huang L., Cunniff K.J., Ruteshouser E.C., Finegold M.J., Huff V. (2014). β -catenin activation in a novel liver progenitor cell type is sufficient to cause hepatocellular carcinoma and hepatoblastoma. *Cancer research.*, **74(16)**. pp : 4515-4525.

MONGE M. (2006). Cancérologie et biologie – marqueurs tumoraux organe par organe. Elsevier Masson. Paris, pp : 313.

Ochi M.R.E., Bellarbi S., Rouas L., Lamalmi N., Malihy A., Alhamany Z., Cherradi N. (2015). Apport de la biopsie radioguidée dans le diagnostic histopathologique des tumeurs de l'enfant: expérience de l'Hôpital d'Enfant de Rabat. *Pan African Medical Journal.* **21(1)**. pp : 21-318.

Otte J.B. (2010). Progress in the surgical treatment of malignant liver tumors in children. *Cancer treatment reviews.* **36(4)**. pp : 360-371.

Pai S.G., Carneiro B.A., Mota J.M., Costa R., Leite C.A., Barroso-Sousa R., Kaplan J.B., Chae Y.K., Giles F.J. (2017). Wnt/beta-catenin pathway: modulating anticancer immune response. *Journal of hematology & oncology.*, **10(1)**. pp :101-101.

Références bibliographiques

Purcell R., Childs M., Maibach R., Miles C., Turner C., Zimmermann A., Czauderna P., Sullivan M. (2012). Potential biomarkers for hepatoblastoma: results from the SIOPEL-3 study. *European journal of cancer.*, **48(12)**. pp : 1853-1859.

Salam S., Bennani A., Ouzidane L. (2009). RP-WP-10 Imagerie des masses hépatiques en pratique pédiatrique. *Journal de Radiologie.*, **90(10)**. pp : 1594-1594.

Salvatore M., Magrelli A., Flamini V., Brunati A., Basso E., Romagnoli R., David E., Taruscio, D. (2015). Hepatoblastoma and micro RNA-483 two forms and one outcome. *Journal of Genetic Syndromes & Gene Therapy*, **6**.

Sarnacki S., Brisse H., Schleiermacher G., Doz F. (2009). Conduite à tenir devant la découverte d'une tumeur abdominale de l'enfant. *Médecine thérapeutique/Pédiatrie.*, **12(1)**. pp: 29-38.

Sarnacki S., Brisse H., Schleiermacher G., Doz F. (2009). Conduite à tenir devant la découverte d'une tumeur abdominale de l'enfant. *Médecine thérapeutique/Pédiatrie.*, **12(1)**. pp: 29-38.

Schnater J.M., Köhler S.E., Lamers W.H., von Schweinitz D., Aronson D.C. (2003). Where do we stand with hepatoblastoma?. *Cancer.*, **98(4)**. pp : 668-678.

Shaikh F. (2017). A common global risk stratification system for hepatoblastoma. *Lancet Oncology.*, **18(1)**. pp:13. 1-3

Sharma D., Subbarao G., Saxena R. (2017). Hepatoblastoma. In *Seminars in Diagnostic Pathology.*, **34(2)**. pp: 192–200.

Singh T., Satheesh C.T., Appaji L., Aruna Kumari B.S., Padma M., Kumar MV., Mukherjee G. (2010). Hepatoblastoma: Experience from a single center. *Indian Journal of Cancer.*, **(47)**. pp :314-317.

Siriwardena A.K., Mason J.M., Mullamitha S., Hancock H. Sarnacki C., Jegatheeswaran S. (2014). Management of colorectal cancer presenting with synchronous liver metastases. *Nature reviews Clinical oncology.*, **11(8)**. pp : 446-459.

Siriwardena A.K., Mason J.M., Mullamitha S., Hancock H.C., Jegatheeswaran S. (2014). Management of colorectal cancer presenting with synchronous liver metastases. *Nature reviews Clinical oncology.*, **11(8)**. pp : 446-459.

Références bibliographiques

Spyridakis I., Kepertis C., Lampropoulos V., Mouravas V., Filippopoulos A. (2014). Embryonal/Fetal Subtype Hepatoblastoma: A Case Report. *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR.*, **8(9)**. pp : 1-2.

Takayasu H., Horie H., Hiyama E., Matsunaga T., Hayashi Y., Watanabe Y., Suita S., Kaneko M., Sasaki F., Hashizume K., Ozaki T., Furuuchi K., Tada M., Ohnuma N., Nakagawara A. (2001). Frequent Deletions and Mutations of the β -Catenin Gene Are Associated with Overexpression of Cyclin D1 and Fibronectin and Poorly Differentiated Histology in Childhood Hepatoblastoma. *Clinical Cancer Research.*, **7(4)**. pp: 901-908.

Taque S., Buendia M.A., Fabre M., Branchereau S., Pariente D., Bruneau B. Brugières L. (2013). Ce qu'il faut retenir sur l'hépatoblastome de l'enfant. *Revue d'Oncologie Hématologie Pédiatrique.*, **1(3)**. pp : 111-119.

Thompson M.D., Monga S.P. (2007). WNT/ β -catenin signaling in liver health and disease. *Hepatology.*, **45(5)**. pp : 1298-1305.

Tizniti S., Gane Mbengue M.N. (2009). Imagerie des tumeurs du foie (à propos de 52 cas). Faculté de médecine et de pharmacie de Fès.

Trobaugh-Lotrario A.D., Tomlinson G.E., Finegold M.J., Gore L., Feusner J.H. (2009). Small cell undifferentiated variant of hepatoblastoma: adverse clinical and molecular features similar to rhabdoid tumors. *Pediatric blood & cancer.*, **52(3)**. pp : 328-334.

Vokuhl C., Oyen F., Häberle B., von Schweinitz D., Schneppenheim R., Leuschner I. (2016). Small cell undifferentiated (SCUD) hepatoblastomas: All malignant rhabdoid tumors?. *Genes, Chromosomes and Cancer.*, **55(12)**. pp : 925-931.

Von Schweinitz D. (2003). Neonatal liver tumours. In *Seminars in neonatology.*, **8(5)**. pp : 403-410.

Von Schweinitz D. (2012). Hepatoblastoma : recent developments in research and treatment. In *Seminars in pediatric surgery.*, **21(1)**. pp: 21-30.

Wei Y., Fabre M., Branchereau S., Gauthier F., Perilongo G., Buendia M.A. (2000). Activation of β -catenin in epithelial and mesenchymal hepatoblastomas. *Oncogene.*, **19(4)**. pp:498-505.

Références bibliographiques

Zhou S., Parham D.M., Yung E., Pattengale P., Wang L. (2015). Quantification of glypican 3, β -catenin and claudin-1 protein expression in hepatoblastoma and paediatric hepatocellular carcinoma by colour deconvolution. *Histopathology.*, **67(6)**. pp : 905-913.

Zimmermann A. (2005). The emerging family of hepatoblastoma tumours: From ontogenesis to oncogenesis. *European Journal of Cancer.*, **41(11)**. pp : 1503-1514.

Zorn AM. Division of Developmental Biology. (2008). Ed, The Stem Cell Research Community. pp : 1-26.

ZOURK J. (2015). Apport de l'imagerie dans les tumeurs abdominales malignes de l'enfant. Université CADI Ayyad. pp : 1-95.

les sites :

<http://sites.lafayette.edu/neur401-sp10/files/2010/04/untitled.jpg/>.

Annexes

Annexe 1

- lésion solide bien limitée de 6 à 20 cm
- le plus souvent isolée (80%)
- lobe droit dans 57%
- gauche dans 15%
- les 2 dans 28%
- multiple dans 20%
- partiellement encapsulé, lobulé, souvent remanié du fait d'hémorragies, infarctus et nécrose

Annexe 2

Des éléments permettent d'affiner la classification

F = tumeur multifocale.

R = rupture de la tumeur ou hémorragie intrapéritonéale.

C = atteinte du lobe caudal.

N = présence de métastases dans les ganglions lymphatiques.

P = atteinte de la veine porte ou de ses 2 branches.

E = extension extra-hépatique de la tumeur.

M = présence de métastases distantes.

V = atteinte de la veine cave inférieure ou des veines hépatiques.

Annexes

Annexe 3

Prise en charge macroscopique des prélèvements

Types des pièces opératoires

- Lobectomie gauche (segmets II et III)
- Lobectomie droite (segmets IV, V, VI, VII, VIII)
- Hépatectomie droite (segments V, VI, VII, VIII)
- Hépatectomie gauche (segments II, III, IV)
- Segmentectomie
- Tumorectomie

Annexe 4

a/Echantillonnage

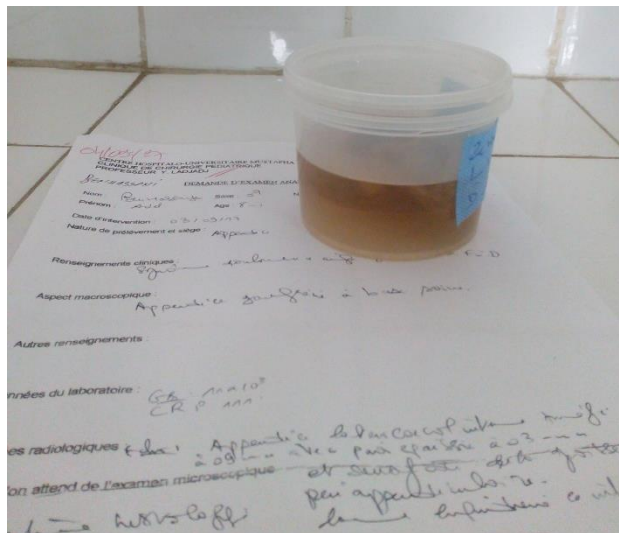


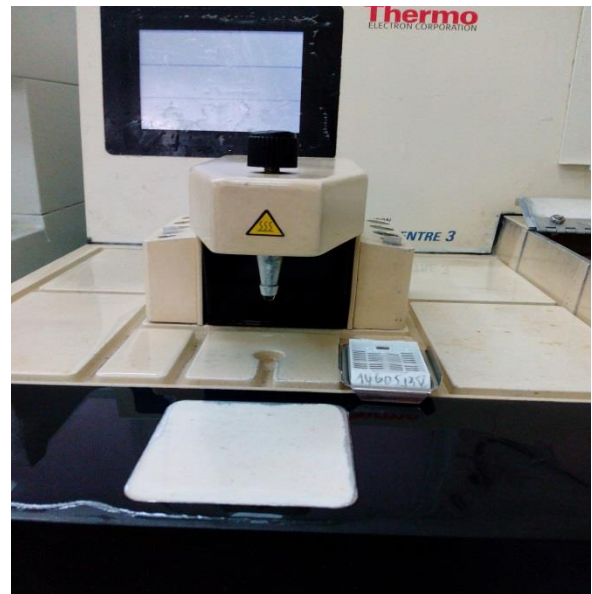
Figure : Prélèvement destiné à l'étude anatomopathologique. Flacons contenant les prélèvements et accompagnés d'une fiche de renseignement correspondante.

Annexes

b/Appareillage



**Appareil de circulation
« type LEICA »**



**Appareil d'inclusion
« type Thermo »**



Microtome « type LEICA »



Etuve « type MEMMERT »

Annexes



Incubateur « type MEMMERT »



Plaque chauffante « type LEICA »



Bain marie « type LEICA »



Microscope photonique « type LEICA »

Annexes

c/Verreeries et autres materiels

Bacs de rinçage

Cassettes en plastique

Crayon

Eprouvette graduée

Gants stérilisés

Lames coupantes

Lames porte-objet et lamelles

Micropipette

Moules en métal

Pince

Pinceau

Piquets

Porte-lame

Portoirs inoxydables

Stylo DakoPen

d/Réactifs et solutions

Acide chlorhydrique (HCL)

Ammoniaque (NH³⁺)

Anticorps primaires anti- β -caténine : anticorps monoclonal de souris. Clone : β -caténine-1, Isotype : IgG₁, Kappa.

Anticorps primaires anti-AFP : Polyclonal Rabbit Anti-Human Alpha-1-fetoprotein (AFP)

Anticorps secondaires de chèvre polyclonaux conjugués à un polymère marqué à l'HRP (horseradish peroxidase)

Annexes

Eau (distillée, courante)

Eau oxygénée (H_2O_2)

Eosine

Ethanol (alcool éthylique) à différentes concentration

Formol à 10%

Hématoxyline de Mayer

Paraffine

Solution de montage E-Kitt

Substrat chromogène 3-3'

Diaminobenzidine (DAB)

Xylène (C_8H_{10})

Annexes

Annexe 5

Réalisation des coupes histologiques

1. Fixation

Les prélèvements ont été mis dans des flacons contenant du formol tamponné à 10%, elle permet la préservation du tissu dans un état aussi proche que possible à l'état vivant.

Elle s'est effectuée directement après l'acte du prélèvement.

2. Post-fixation

Après l'étude macroscopique, les cassettes ont été plongées dans le formol contenant de l'éosine (10%) qui rend les fragments tissulaires plus visibles au sein du bloc de paraffine (figure a).



(a)

Après un séjour, les cassettes ont été rincées puis mises dans la cuve de l'appareil de circulation pour subir les étapes suivantes.

3. Déshydratation

Elle a été effectuée par passage des cassettes dans 7 bains d'alcool éthylique (éthanol) à concentration croissante (70°-100°). Chaque bain dure 2 heures.

Cette étape consiste à éliminer l'eau qui existe dans les tissus.

Annexes

4. Eclaircissement

S'est fait par passage des cassettes dans 3 bains de xylène, 2 heures pour chacun, ça consiste à enlever l'alcool utilisé dans la deshydratation et par conséquent préparer le tissu à l'imprégnation.

5. Imprégnation

Etape assurée par la paraffine liquide (point de fusion 56°C), effectuée dans deux bains, deux heures pour chacun.

Elle consiste à remplacer l'eau des tissus par la paraffine liquide et ceci pour pouvoir confectionner des coupes minces.

6. Inclusion et mise en blocs

Les fragments tissulaires ont été centrés dans des moules en métal préalablement chauffés et remplis à moitié de la paraffine dissoute (figure b).

Les parties des cassettes numérotées qui vont servir comme support sur le microtome, ont été déposées sur les tissus, suivis d'un remplissage des moules avec de la paraffine dissoute.



(b)

Après refroidissement des moules sur une plaque refroidissante et au bout de quelques minutes la paraffine se solidifie (figure c), les blocs ont été démoulés et conservés au congélateur à 4°C jusqu'à la réalisation des coupes.



(c)

7. Réalisation des coupes

Les blocs bien refroidis ont été montrés dans le porte bloc du microtome (figure d), puis subis un dégrossissement afin d'éliminer le surplus de la paraffine (obtention des coupes épaisses).

L'épaisseur de la coupe définitive a été réglée à $3\mu\text{m}$ pour obtenir des rubans (figure e).



(d)

(e)

8. Confection des coupes

Les rubans ont été étalés sur des lames porte-objet préalablement numérotés contenant une petite quantité d'eau de robinet. Les lames ont été posées sur la plaque chauffante réglée à 62°C (permettant le déplissement des coupes), égouttées puis placées dans un porte-lame.

Enfin, les lames ont été mises dans l'étuve (54°C) pendant une nuit pour augmenter l'adhérence des coupes.

Annexes

Annexe 6

Coloration à l'hématoxyline-éosine

1. Déparaffinage

A leur sortie de l'étuve, les lames ont été plongées dans un bain de xylène pendant une heure afin d'éliminer la paraffine.

2. Réhydratation

S'est faite par passage des lames dans 3 bains d'alcool à des concentrations décroissantes, avant d'être passées dans un bain d'eau (pendant 10 minutes).

Elle a pour but de retirer le xylène du tissu et le remplacer par l'eau.

3. Coloration à l'hématoxyline-éosine

Elle est effectuée par passage dans 4 bacs successifs :

- Bac d'hématoxyline (3 à 4 minutes)
- Rinçage à l'eau
- Bac d'eau acidulée (passage rapide)
- Rinçage à l'eau
- Bac d'eau ammoniacale (passage rapide)
- Bac d'éosine (3 à 4 minutes)
- Rinçage dans deux bacs d'eau
- Deux bacs d'alcool croissant (passage rapide)

4. Déshydratation

Par passage des lames dans deux bains d'alcool, suivi d'un bain de xylène.

Annexes

5. Montage

Une goutte du milieu de montage « Eukit » a été déposée sur la coupe colorée, sur laquelle une lamelle a été appliquée de façon à ce que l'Eukit recouvre l'ensemble de la coupe sans faire des bulles. Cette étape permet de protéger les coupes histologiques contre les brises mécaniques et la dégradation chimique des colorants (figure f).



(f)

Les lames sont séchées et nettoyées par le xylène.

Annexes

Annexe 7

Protocole de la technique immunohistochimique

a. Confection des coupes

Les coupes tissulaires réalisées à l'aide du microtome dont l'épaisseur est de 4 μm , ont été ramollies à la surface d'un bain marie, puis recueillies sur des lames sinalisées préalablement numérotées pour éviter le décollement des tissus lors de la manipulation.

b. Incubation

Après séchage et pour une meilleur adhésion des tissus, les lames ont été incubées dans l'étuve pendant une nuit à 54°C, une température proche de la température de fusion de la paraffine, ce qui permet d'éliminer le film liquidien compris entre la lame et la coupe paraffinée.

c. Déparaffinage et réhydratation

Passage des lames dans :

- Quatre bains de xylène (5 minutes pour chacun) pour éliminer la paraffine.
- Quatre bains d'alcool à concentration décroissante (5 minutes pour chacun) pour la réhydratation.
- Rinçage à l'eau distillée.

d. Blocage de la peroxydase endogène

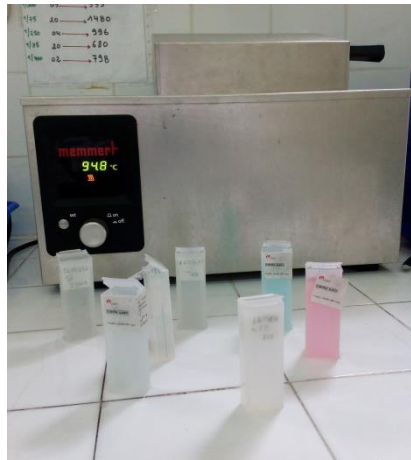
- Cerclage de la zone étudiée à l'aide du DakoPen afin d'éviter la disperssion des réactifs ;
- Application du peroxyde d'hydrogène(H_2O_2) à 3% sur le tissu pendant 10 minutes, pour éliminer l'action des peroxydases endogènes sur le chromogène ;
- Rinçage à l'eau distillée (deux fois) ;
- Passage dans un bain de PBS pour préserver les propriétés physico-chimique du tissu.

Annexes

e. Démasquage antigénique

✚ β -caténine (figure g)

- Transférer les lames dans un récipient approprié contenant la solution de démasquage (EDTA à pH 9) préchauffée ;
- Mettre le récipient dans un incubateur réglé à 95°C (40 minutes) ;
- Sortir le récipient de l'incubateur et laisser refroidir sur la paillasse (20 minutes) ;
- Faire passer les lames dans deux bains d'eau distillée (5 minutes pour chacun).



(g)

✚ AFP

Le prétraitement des tissus avec la protéinase K ou desquamation de l'épitope par chaleur n'est pas requis.

Immunomarquage

Les coupes de tissus ne doivent pas sécher pendant le traitement ou la procédure d'immunomarquage immunocytochimique suivante.

a. L'application de l'anticorps primaire (Figure h)

- Traitées les lames par une solution diluée des anticorps primaires et incubées pendant 40 minutes en chambre humide ;
- Rinçage des lames en PBS ;
- Passage des lames dans un bain de PBS (5 minutes).

Annexes



(h)

b. L'application de l'anticorps secondaire (Figure i et j)

- Application du premier AC secondaire (10 minutes) ;
- Rinçage en PBS (trois bains) ;
- Application du deuxième AC secondaire (10 minutes) ;
- Rinçage en PBS (deux bains) ;
- Passage dans un bain de PBS (5 minutes).



(i)



(j)

c. La révélation

Les lames sont traitées au chromogène DAB qui sert comme substrat à la peroxydase et incubées pendant 5 minutes. L'enzyme dégrade le substrat DAB et le produit qui en résulte donne une coloration marron, puis passées au bain d'alcool pour avoir un montage facile et rapide (figure k).

Annexes



(k)

- Rinçage à l'eau distillée (deux bains).

d. Contre coloration, rinçage dans l'eau courante et montage des lames

- immergées les lames pendant 2 minutes dans l'hématoxyline de MAYER pour faire différence entre les noyaux normaux et les noyaux tumoraux ;
- Rinçage à l'eau courante ;
- Séchage et montage des lames.

Annexes

Annexe 8

Tableau I : tableau récapitulatif de l'ensemble des cas d'hépatoblastome

Nbr des cas	N° de dossier	L'âge	Le sexe	Diagnostic
1	7431/07	4 ans	M	HB à petites cellules indifférencies
2	1331/09	18 mois	F	HB mixte
3	1889/10	3 ans	M	HB épithélial prédominance fœtal
4	6737/10	8 mois	F	HB épithélial à cellules indifférencier prédominante
5	8562/10	8 ans	M	HB indifférencie
6	9224/11	3 ans	M	HB mixte épithélial (macrotrabéculaire) et mésenchymateux
7	12718/11	2 ans	M	HB épithélial de type fœtal
8	10575/12	4 ans	M	HB épithélial de type embryonnaire
9	15580/12	10 mois	F	HB de type épithélial sous-type mixte fœtal et embryonnaire
10	16200/12	11 mois	M	HB tératomateux
11	1336/13	11 mois	F	HB de type mixte tératomateux
12	13004/13	3 ans	M	HB épithélial de type fœtal prédominant
13	14605/13	3 ans	F	HB de type épithélial de sous-type fœtal prédominant
14	15858/13	15 mois	M	HB mixte : double composante épithélial et mésenchymateux
15	1180/14	14 mois	F	HB mixte : prédominance mésenchymateuse
16	3879/14	11 mois	F	HB mixte épithélial et mésenchymateux
17	8385/14	18 mois	F	HB de type épithélial à composante fœtale prédominante
18	9043/14	2 ans	M	HB mixte (mésenchymateux et épithélial)
19	10694/14	3 ans	M	HB mixte épithélial (à prédominance fœtal) et mésenchymateux
20	12041/14	2 ans	M	HB épithélial à prédominance fœtale
21	17369/14	12 mois	F	HB épithélial sous-type mixte (embryonnaire et fœtal)
22	18541/14	24 mois	M	HB épithélial avec contingent fœtal prédominant
23	55/15	14 mois	F	HB mixte à prédominance mésenchymateuse
24	3500/15	2 ans	F	HB mixte épithéliale (embryonnaire) et mésenchymateux
25	8270/15	18 mois	M	HB épithélial de type fœtal
26	8643/15	9 ans	M	HB épithélial pur de type fœtal
27	17766/15	3 ans	M	HB épithélial pur à prédominance fœtal
28	14733/16	12 mois	M	HB Epithélial embryonnaire
29	16974/16	3 mois	M	HB épithélial avec composante fœtale prédominante
30	1453/17	14 mois	F	HB bi phasique (mixte)

Annexes

Tableau II : Répartition d'hépatoblastome selon le sexe

Sexe	Masculin	Féminin	Total
Nombre de patients	18	12	30
Pourcentage %	60	40	100

Tableau III : répartition d'hépatoblastome selon l'âgechez les deux sexes.

Age	Nbr des patients
3 mois	1
8 mois	1
10 mois	1
11 mois	3
12 mois	2
14 mois	3
15 mois	1
18 mois	3
2 ans	5
3 ans	6
4 ans	2
8 ans	1
9 ans	1

Tableau IV : Répartition h'hépatoblastome selon le type histologique

Type histologique	Epithélial	Mixte	Total
Nombre	18	12	30
Pourcentage %	60	40	100

Annexes

Tableau V : Composants épithéliaux de spécimens sélectionnés d'hépatoblastome.

La composante épithéliale	Nombre des cas
prédominance fœtal	9
fœtal pur	2
embryonnaire pur	2
fœtal et embryonnaire	2
prédominance SCU	2
SCU	1

Tableau VI : Hépatoblastome Mixte avec et sans composantes tératoïdes

La composante mixte	Nombre des cas
Sans composantes tératoïdes	10
avec composantes tératoïdes	2

Analyse statistique

1. La moyenne arithmétique

$$m = \frac{X_1 + X_2 + X_3 + \dots + X_n}{N} = \frac{\sum_{i=1}^n X_i}{N}$$

2. Médiane

La médiane est la valeur partageant une série statistique dont les valeurs sont rangées en ordre croissant (ou décroissant) en deux groupes.

3. Le test Exact de Fischer

Le tableau de contingence consignait les résultats du dosage sérique et de l'immunomarqueur a été soumis, statistiquement au test de khi-deux d'indépendance.

L'hypothèse nulle d'indépendance est rejetée quand la P value < 5% et dans ce cas on retient l'hypothèse alternative, c'est-à-dire il y a liaison (concordance ou association) entre les 2 caractères objet d'étude, il s'agit ici de l'immunomarqueur et du dosage sérique.

Annexes

Comme, tout au moins, un des effectifs théoriques est inférieur à 5, il n'est pas possible d'utiliser le test de khi-deux, il faut donc recourir au test Exact de Fisher.

Ce test a été réalisé à travers le logiciel open source R dernière version de juin 2017. C'est la version R 3.4.1.