

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université **BLIDA 1**

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie et de Physiologie Cellulaire



**Mémoire de fin d'études**

**En vue de l'obtention du diplôme de Master**

**Option : Biosignalisation cellulaire et moléculaire : Immunologie**

**Thème**

**Carcinome hépatocellulaire : Aspects histomorphologiques et immunohistochimiques**

Réalisé par :

**M'SILTI Asma**

Soutenu le **29 /10 / 2015** devant le jury composé de :

Mme HARKAT S.	Maitre assistant A	Blida 1	Président
Mme KESKAS S.	Maitre assistant A	Blida 1	Examinatrice
Dr SUFAN F.	Assistante principale	CHU Mustapha –Alger-	Promotrice
Mme OUARAB S.	Maitre de conférences A	Blida 1	co-promotrice

Promotion 2014 - 2015



# DEDICACES

*Je dédie ce mémoire à mes très chers parents,*

*A mon cher mari*

*A ma promotrice Dr SUFAN F.*

*A ma co-promotrice Mme OUARAB S.*

*A mes chères sœurs , ma chère cousine ZINEB*

*Ainsi qu'à toute ma famille et ma belle famille.*

# REMERCIEMENTS

*Je tiens tout d'abord à remercier DIEU pour m'avoir donné le courage et la détermination nécessaire pour finaliser ce travail de recherche.*

*Je remercie mes parents, mon mari, mes sœurs ainsi que toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.*

*Docteur SUFAN F., pour sa disponibilité à encadrer ce travail*

*Madame OUARAB S., qui m'a offert son précieux aide*

*Professeur AMIR ZC., Chef de service d'anatomie pathologique pour m'avoir permis d'effectuer ce stage au sein de son service, ainsi que toutes les techniciennes du laboratoire spécialement madame Soraya, Malika et Lamia.*

*J'adresse mes sincères remerciements à Madame Harkat pour avoir accepté de présider le jury.*

*Je tiens également à adresser mes vifs remerciements à Madame KESKAS pour avoir accepté d'examiner ce mémoire.*

*Mes remerciements vont également aux présentes personnes et aussi à mes amies IMENE, EL-GHALIA, ZINEB, SAKINA, ILHEM et SELMA.*

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableaux</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau 1</b>	Classification TNM	<b>Annexe 1</b>
<b>Tableau 2</b>	Principales méthodes thérapeutiques proposées en cas de CHC	<b>Annexe 2</b>
<b>Tableau 3</b>	Matériel non biologique : appareillage	<b>Page 17</b>
<b>Tableau 4</b>	Matériel non biologique utilisé en histochimie	<b>Page 18</b>
<b>Tableau 5</b>	Matériel non biologique utilisé en immunohistochimie	<b>Page 18</b>
<b>Tableau 6</b>	Répartition des CHC selon le sexe des malades	<b>Page 27</b>
<b>Tableau 7</b>	Répartition des CHC selon l'âge	<b>Page 28</b>
<b>Tableau 8</b>	Répartition des CHC selon l'hépatopathie pré-existante	<b>Page 29</b>
<b>Tableau 9</b>	Répartition des CHC selon le grade histologique (classification d'Edmonson et Steiner)	<b>Page 29</b>
<b>Tableau 10</b>	Variantes histologiques du CHC	<b>Page 32</b>
<b>Tableau 11</b>	Expression de la bêta-caténine	<b>Page 34</b>
<b>Tableau 12</b>	Expression de l'Ag hépatocytaire	<b>Page 38</b>

# LISTE DES FIGURES

<b>Figures</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Figure 1</b>	Segmentation du foie selon Couinaud	<b>Page 1</b>
<b>Figure 2</b>	Ébauches hépatobiliaires et pancréatiques (à environ 35 jours)	<b>Page 2</b>
<b>Figure 3</b>	Schématisation de l'organisation du lobule hépatique	<b>Page 3</b>
<b>Figure 4</b>	Grandes disparités géographiques d'incidence et de mortalité	<b>Page 5</b>
<b>Figure 5</b>	Pathologies hépatiques prédisposant au développement du CHC	<b>Page 6</b>
<b>Figure 6</b>	Multilocalisation et multifonctionnalité de $\beta$ -caténine	<b>Page 9</b>
<b>Figure 7</b>	Voie de signalisation Wnt/ $\beta$ -caténine (activée et inactivée)	<b>Page 10</b>
<b>Figure 8</b>	Le contrôle du microenvironnement inflammatoire par la $\beta$ -caténine	<b>Page 15</b>
<b>Figure 9</b>	Fixation dans du formol dilué à 10%	<b>Page 20</b>
<b>Figure 10</b>	Circulateur automatique (LEICA TP 10 20)	<b>Page 20</b>
<b>Figure 11</b>	Appareil d'inclusion	<b>Page 21</b>
<b>Figure 12</b>	Microtome	<b>Page 21</b>
<b>Figure 13</b>	Anticorps primaires ( Ag hépatocytaire et $\beta$ -caténine )	<b>Page 25</b>
<b>Figure 15</b>	Application de l'Ac primaire	<b>Page 25</b>
<b>Figure 15</b>	Contre coloration par l'hématoxyline de Mayer	<b>Page 26</b>
<b>Figure 16</b>	Répartition des CHC selon le sexe	<b>Page 27</b>
<b>Figure 17</b>	Répartition des CHC selon l'âge	<b>Page 28</b>
<b>Figure 18</b>	Répartition des CHC selon le grade histologique ( Classification d'Edmonson et Steiner)	<b>Page 30</b>
<b>Figure 19</b>	CHC grade II(Edmonson et Steiner).(HE X200)	<b>Page 30</b>
<b>Figure 20</b>	CHC grade II(Edmonson et Steiner).(HE X200)	<b>Page 31</b>
<b>Figure 21</b>	CHC grade III ( Edmonson et Steiner) . (HE X200)	<b>Page 31</b>
<b>Figure 22</b>	CHC de grade IV .(HE X200)	<b>Page 32</b>
<b>Figure 23</b>	CHC fibrolamellaire (Trichrome de Masson)	<b>Page 33</b>
<b>Figure 24</b>	CHC à cellules claires.(HE X 100) (HE X 200)	<b>Page 34</b>
<b>Figure 25</b>	Expression membranaire de la $\beta$ -caténine par un revêtement malpighien (témoin).(IHC X100) (IHC X400)	<b>Page 35</b>
<b>Figure 26</b>	CHC grade II (Edmonson et Steiner). IHC à la $\beta$ -caténine-marquage intense, membranaire et cytoplasmique >80 % des cellules tumorales.(IHC X400 )	<b>Page 35</b>
<b>Figure 27</b>	CHC grade III (Edmonson et Steiner). IHC à la $\beta$ -caténine-marquage intense, membranaire et cytoplasmique >80 % des cellules tumorales. (IHC X400 )	<b>Page 36</b>
<b>Figure 28</b>	CHC de grade IV (Edmonson et Steiner) .IHC : marquage nucléaire intense (<5% des cellules tumorales) et cytoplasmique (<10% des	<b>Page 36</b>

	cellules tumorales) par la b-caténine.(IHC X400) (IHC X200)	
<b>Figure 29</b>	CHC de grade II (à cellules claires) marqué par la b-caténine ,marquage modéré et focale .(IHC X200 )	<b>Page 37</b>
<b>Figure 30</b>	CHC de grade II( fibrolamellaire) marqué par la b-caténine (IHC X200)	<b>Page 37</b>
<b>Figure 31</b>	CHC grade II (Edmonson et Steiner)- Marquage cytoplasmique diffus par l'Ag hépatocytaire. Parenchyme hépatique non tumoral à droite. (IHC X200)	<b>Page 38</b>
<b>Figure 32</b>	CHC grade IV (Edmonson et Steiner). IHC à Ag hépatocytaire : positivité cytoplasmique focale.(IHC X100)(IHC X400)	<b>Page 39</b>
<b>Figure 33</b>	CHC à cellules claires marqué par l'Ag hépatocytaire (IHC X200)	<b>Page 39</b>

# LISTE DES ABREVIATIONS

Ac : Anticorps

ACE : Antigène Carcino-Embryonnaire

ADN : Acide désoxyribonucléique

AFB1 : Aflatoxine B1

AFP : Alpha-foetoprotéine

Ag : Antigène

APC : Adenomatous Polyposis Coli

Arg : Argénine

CHC : Carcinome Hépatocellulaire

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

DAB : Diaminobenzidin

Dvl : Dishvelled

Fz : Frizzled

GSK 3 b : Glycogen Synthase Kinase 3b

HBs : Hepatitis B surface

HDPR1 : Dapperhomolog 1

HE : Hematoxyline Eosine

IGF : Insuline-like Growth Factor

IHC : Immunohistochimie

IRM : Imagerie par résonance magnétique

LECT 2 : Leukocyte cell-derived chemotaxin 2

LEF : Lymphoid Enhancer Factor

LRP 5/6 : Lipoprotein Receptor-Related Protein 5/6

NASH : Stéato-Hépatite Non Alcoolique

NF-kB : Nuclear Factor-*Kappa B*

NK : Natural killer cell

PBS : Phosphate Buffered Saline

Pin 1 : . Peptidyl-propyl cis-trans isomerase *1*

Prickle 1 : Prickle Homolog 1

Ser : Serine

TCF : T-Cell Factor

TNM : Tumor-Nodes-Metastasis

VHB : Virus de l'hépatite B

VHC : Virus de l'hépatite C

Wnt : Wingless et int-1

# RESUME

Dans cette étude, nous nous sommes intéressés à la voie de signalisation wnt/béta-caténine dont l'expression aberrante dans le foie est oncogénique.

L'objectif de notre travail est d'étudier les aspects histo-morphologiques du carcinome hépatocellulaire et d'appliquer la technique d'immunohistochimie pour localiser la béta-caténine au niveau des cellules tumorales puis corréler son expression aux différents grades histologiques du carcinome hépatocellulaire, à travers une étude rétrospective qui s'est déroulée du 1<sup>er</sup> Janvier 2011 au 30 Septembre 2014 sur 35 prélèvements (ponction biopsie hépatique) colligés au laboratoire d'anatomie pathologique du Centre hospitalo-universitaire, Mustapha Bacha (Alger centre).

L'âge des patients varie entre 29 et 84 ans, en moyenne de 62,4 ans avec une prédominance masculine, la tranche d'âge comprise entre 70 et 80 est la plus touchée. Le grade histologique II est le plus fréquent, il représente 74 %.

La technique d'immunohistochimie a été réalisée chez 8 patients (à cause d'absence de matériel biologique et non biologique) dont la  $\beta$ -caténine a été exprimé dans 62,5% des cas. Nous avons corrélé son expression (localisation) aux grades histologiques du carcinome hépatocellulaire dont le plus agressif (grade IV) correspondait à l'expression nucléaire de la béta-caténine tandis que son accumulation cytoplasmique correspondait au grade III du CHC.

Cette étude doit être élargie sur un nombre plus important de malades afin de pouvoir la valider statistiquement.

Mots clés : Carcinome hépatocellulaire, Béta-caténine, Grade histologique, Immunohistochimie, Expression nucléaire.



## Abstract

In this study, we were interested in the signaling pathway Wnt / beta-catenin whose aberrant expression in the liver is oncogenic.

The aim of our work is to study the histo-morphological aspects of hepatocellular carcinoma and apply immunohistochemical technique to locate the beta-catenin in tumor cells and its expression correlate the different histologic grades of hepatocellular carcinoma, through a retrospective study, which took place from 1st January 2011 to 30 th September 2014 on 35 samples (liver biopsy) collected in the pathology laboratory of the University Hospital Mustapha Bacha (Algiers center).

Patient's age varies between 29 and 84 years, averaging 62.4 years with a male predominance, the age group between 70 and 80 is the most affected. Histologic grade II is the most common, it represents 74%.

The technique of immunohistochemistry was performed in 8 patients (lack of biological and non-biological materials), the  $\beta$ -catenin was expressed in 62.5% of cases. We correlated the expression of  $\beta$ -catenin (localization) with histological grade of hepatocellular carcinoma, the most aggressive (grade IV) corresponded to the nuclear expression of beta-catenin while its cytoplasmic accumulation corresponded to Grade III of HCC.

This study should be extended to a larger number of patients in order to validate statistically.

Keywords: Hepatocellular carcinoma, Beta-catenin, histological grade, Immunohistochemistry, Nuclear Expression.

## المخلص

في هذه الدراسة، اهتمنا بمسار الإشارات WNT/  $\beta$ -catenin التي يكون تعبيرها شاذا خلال سرطان الكبد.

الهدف من عملنا هو دراسة الجوانب الهيستومورفولوجية من سرطان الكبد وتطبيق التقنية المناعية الكيميائية لتحديد موقع العلامة  $\beta$ -catenin في الخلايا السرطانية الكبدية وربطها بالصفوف النسيجية المختلفة من سرطان الكبد، من خلال دراسة استعادية، امتدت من 1 جانفي 2011 إلى 30 سبتمبر 2014 على 35 عينة (خزعة الكبد) تم جمعها في مختبر علم الأمراض في المستشفى الجامعي مصطفى باشا (الجزائر العاصمة – وسط -).

عمر المرضى تراوح ما بين 29 و 84 سنة، حيث بلغ متوسط العمر 62.4 سنة مع أغلبية ذكورية ، الفئة العمرية بين 70 و 80 كانت الأكثر إصابة بالمرض . الصف النسيجي الثاني لسرطان الكبد كان الأكثر شيوعا، بحيث مثل 74%.

تم تنفيذ التقنية المناعية الكيميائية على 8 من العينات (بسبب نقص المواد البيولوجية وغير البيولوجية)، بحسب النتائج التي تحصلنا عليها مثل التعبير الإيجابي للعلامة  $\beta$ -catenin 62.5% من الحالات بحيث استطعنا ربط تموقع العلامة  $\beta$ -catenin بالصفوف النسيجية لسرطان الكبد، بحيث توافق الصف النسيجي الرابع لسرطان الكبد و هو الأكثر عدوانية مع التعبير النووي للعلامة  $\beta$ -catenin ، بينما توافق تواجدها في الهبولى مع الصف الثالث من الورم السرطاني.

يجب أن تمتد هذه الدراسة لعدد أكبر من المرضى من أجل التحقق من صحتها إحصائيا.

كلمات البحث: سرطان الكبد ، ،  $\beta$ -catenin ، الصف النسيجي، التقنية المناعية الكيميائية، التعبير النووي.

# *Sommaire*

## **Introduction**

## **CHAPITRE I : DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES**

### **I - Foie**

I.1- Anatomie.....	1
I.2- Origine embryonnaire .....	2
I.3- Histologie.....	3
I.4 – Cytologie .....	3
I.5 – Régénération hépatique .....	4

### **II- Carcinome hépatocellulaire (CHC)**

II.1- Définition.....	4
II.2-Epidémiologie.....	4
II.3- Facteurs de risque.....	5
II.4- Mécanismes d'hépatocarcinogèse.....	8
II.4.1-Voie P53.....	8
II.4.1- Voie wnt/béta-caténine.....	8

### **III- Dépistage et diagnostic**

III.1- Dépistage .....	11
III.2 – Diagnostic.....	11

### **IV- Classification pré-thérapeutique**

IV.1- Classification TNM.....	14
-------------------------------	----

### **V- Traitements**

V.1- Méthodes à visée curative.....	14
V.2- Méthodes à visée palliative.....	14
V.3- Immunothérapie.....	14

## **CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES**

II-1- Population d'étude .....	16
II-2- Matériel non biologique.....	16
II- 3-Méthodes.....	18

## **CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION**

III-1– Série.....	27
III- 2- Paramètres épidémiologiques.....	27
III -3- Paramètres cliniques.....	29
III -4- Paramètres anatomopathologiques.....	29
IV- Discussion.....	40

## **Conclusion**

## **Bibliographie**

## **Annexes**

# *INTRODUCTION*

## Introduction

Le carcinome hépatocellulaire est la principale tumeur maligne primitive du foie.

C'est une complication majeure de la plupart des maladies chroniques du foie, qui survient le plus souvent au stade de cirrhose. Les 30 dernières années ont été marquées par une forte augmentation de l'incidence et de la mortalité de ce cancer dans les pays industrialisés (**Trinchet,2009**).

Grâce au développement de méthodes d'analyse globale du génome et du transcriptome, différents événements moléculaires et altérations génétiques ont été identifiés dans le CHC dont la voie Wnt/béta-caténine. Des études récentes ont cherché à faire de la bêta-caténine une éventuelle cible thérapeutique dans la thérapie anticancéreuse.

L'objectif de notre travail est d'étudier les aspects histo-morphologiques du carcinome hépatocellulaire et d'appliquer la technique d'immunohistochimie pour localiser la bêta-caténine au niveau des cellules tumorales (accumulation membranaire, cytoplasmique ou nucléaire) puis corréler son expression aux différents grades histologiques du carcinome hépatocellulaire.

Nous présenterons successivement quelques rappels sur le foie et sur le carcinome hépatocellulaire puis les deux principales voies de signalisation altérées au cours de l'hépatocarcinogénèse et nous nous baserons sur la voie wnt/béta-caténine.

La deuxième partie sera consacrée au matériel et méthodes utilisées dans ce travail.

Il est suivi du chapitre « Résultats ». Ces derniers seront discutés par comparaison aux données de la littérature et finalement, nous terminerons par une conclusion générale.

# *CHAPITRE I*

## *Données bibliographiques*

## I. Anatomie du foie

Le foie est l'organe le plus volumineux du corps humain; situé à la partie supérieure et droite de la cavité abdominale et il pèse environ 2 kilos dont 800 grammes de sang (Abdelwaheb,2004).

Le foie est enveloppé par une capsule (de Glisson), il a des fonctions métaboliques complexes, indispensables à la vie.

### I.1- Segmentation du foie

D'après la segmentation hépatique de Couinaud, le foie est divisé en secteurs, eux-mêmes subdivisés en segments. Les branches de division de la veine porte délimitent les secteurs du foie en huit segments numérotés de I à VIII sur la face inférieure du foie, dans le sens inverse des aiguilles d'une montre (Fig.1) (Castaing et Veilhan,2008) . La division anatomique du foie implique deux lobes séparés par le ligament falciforme (ou ligament suspenseur)

- Le lobe droit (2/3 du volume) et qui comprend les segments IV , V, VI, VII et VIII.
- Le lobe gauche (1/3 du volume), constitué des segments II et III.

Tandis que le segment I ( postérieur/caudal), qui correspond au lobe de Spiegel ou segment du lobe Caudé ; il représente la partie du foie en avant de la veine cave (Castaing et Veilhan,2008).

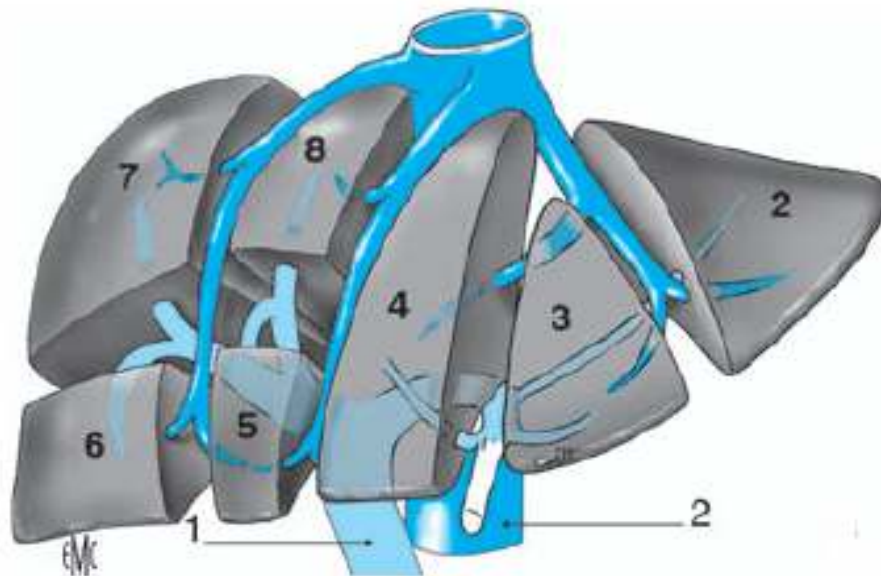
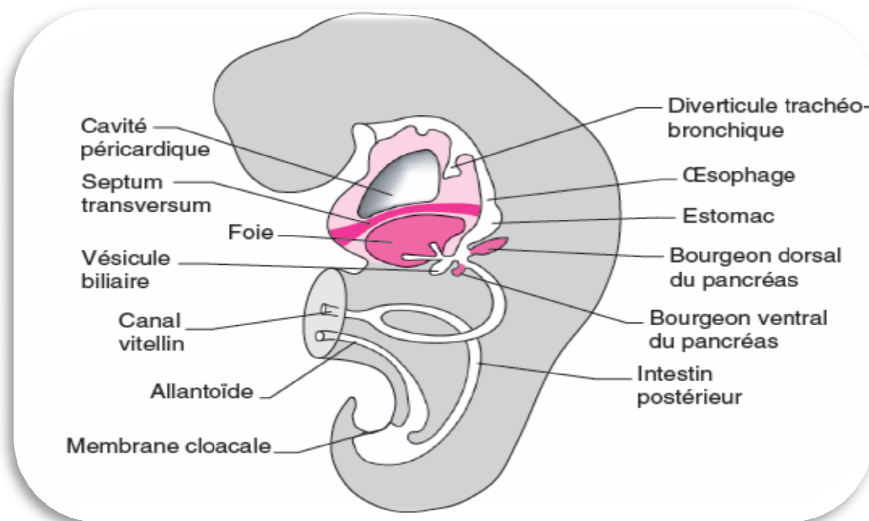


Figure 1 : Segmentation du foie selon Couinaud

### I.2- Origine embryonnaire du foie

Le foie dérive de l'endoderme de la future région duodénale. L'ébauche, le bourgeon hépatique, apparaît à 24 jours. Le bourgeon hépatique est induit par le mésoderme cardiaque, en particulier le sinus venosus, et par le mésoderme du septum transversum, un dérivé des lames latérales (Fig.3) (Encha-Razavi et Escudier,2008).Le bourgeon hépatique se scinde rapidement en un bourgeon hépatique proprement dit qui donne naissance aux hépatocytes et aux cellules épithéliales des conduits biliaires intrahépatiques, et un bourgeon biliaire.





**Figure 2** : Ébauches hépatobiliaires et pancréatiques (à environ 35 jours)

### **I.3- Histologie du foie**

Le parenchyme hépatique est constitué d'unités microscopiques : les lobules hépatiques; séparés par des espaces conjonctifs : les espaces portes (**Abdelwaheb,2004**).

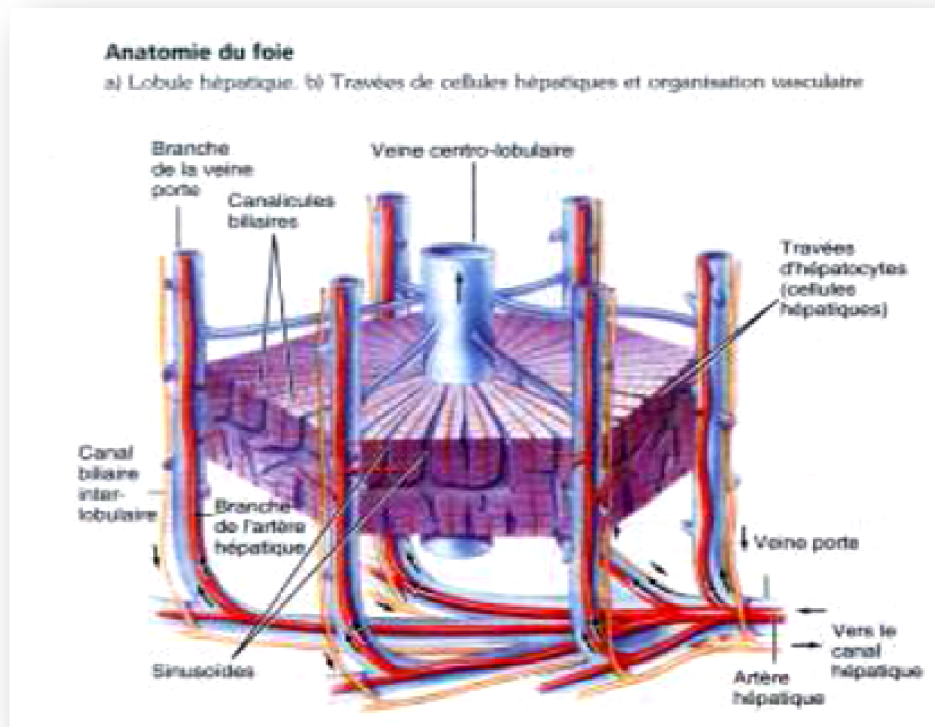
#### **-Lobule hépatique à veine centrolobulaire ou classique**

C'est l'unité morphologique du foie 1,5 à 2 mm x 1 à 1,2 mm (environ 2 à 2,4 mm<sup>3</sup> de volume).

(**Kierszenbaum, 2002**). Les lobules hépatiques sont limités par de fins septa de tissu conjonctif de soutien et sont de forme hexagonale quel que soit le plan de coupe (Fig.3) (**Kierszenbaum, 2002**).

#### **-Espace porte**

Les lobules accolés les uns aux autres sont difficiles à identifier car les structures conjonctives sont limitées à des zones situées aux angles de l'hexagone (3 à 6 par hexagone); ces espaces conjonctifs sont appelés espaces portes (**Abdelwaheb,2004**).



**Figure 3** : Schématisation de l'organisation du lobule hépatique

#### I.4 – Populations cellulaires hépatiques

- **Les hépatocytes** : ils représentent environ 70 % des cellules hépatiques. Ils sont à l'origine des principaux métabolismes intra-hépatiques.
- **Les cellules épithéliales biliaires** : ces cellules bordent les canaux biliaires intra-hépatiques
- **Les cellules endothéliales** : la plupart des cellules endothéliales hépatiques bordent les capillaires sinusoides.
- **Les cellules de Kupffer** : ce sont des macrophages résidant dans le foie. Elles sont habituellement localisées dans la lumière sinusoidale , au contact des cellules endothéliales, mais peuvent avoir des prolongements qui atteignent les hépatocytes
- **Les cellules de Ito** (lipocytes, Jât-storing cells ou stellate cells) : ces cellules sont localisées entre hépatocytes et cellules endothéliales. Dans leur cytoplasme se trouvent des globules lipidiques contenant de la vitamine A .
- **Les pit cells** , de connaissance récente, sont des lymphocytes résidents possédant des activités anti-tumorales de type NK .
- **Cellules étoilées** : Se sont des cellules fibrogéniques, elles sont activées au cours de la fibrose hépatique, **(Rosenbaum et al.,1991).**

## **I.5 - Régénération hépatique**

Le foie a une masse définie qui est proportionnelle à la masse corporelle totale. En cas d'hépatectomie, la masse initiale du foie est restaurée via un processus d'hyperplasie respectant l'architecture microscopique habituelle, mais sans reconstitution de la segmentation anatomique initiale. Il existe donc une hypertrophie des segments restants.

## **II- Le carcinome hépatocellulaire**

### **II.1- Définition**

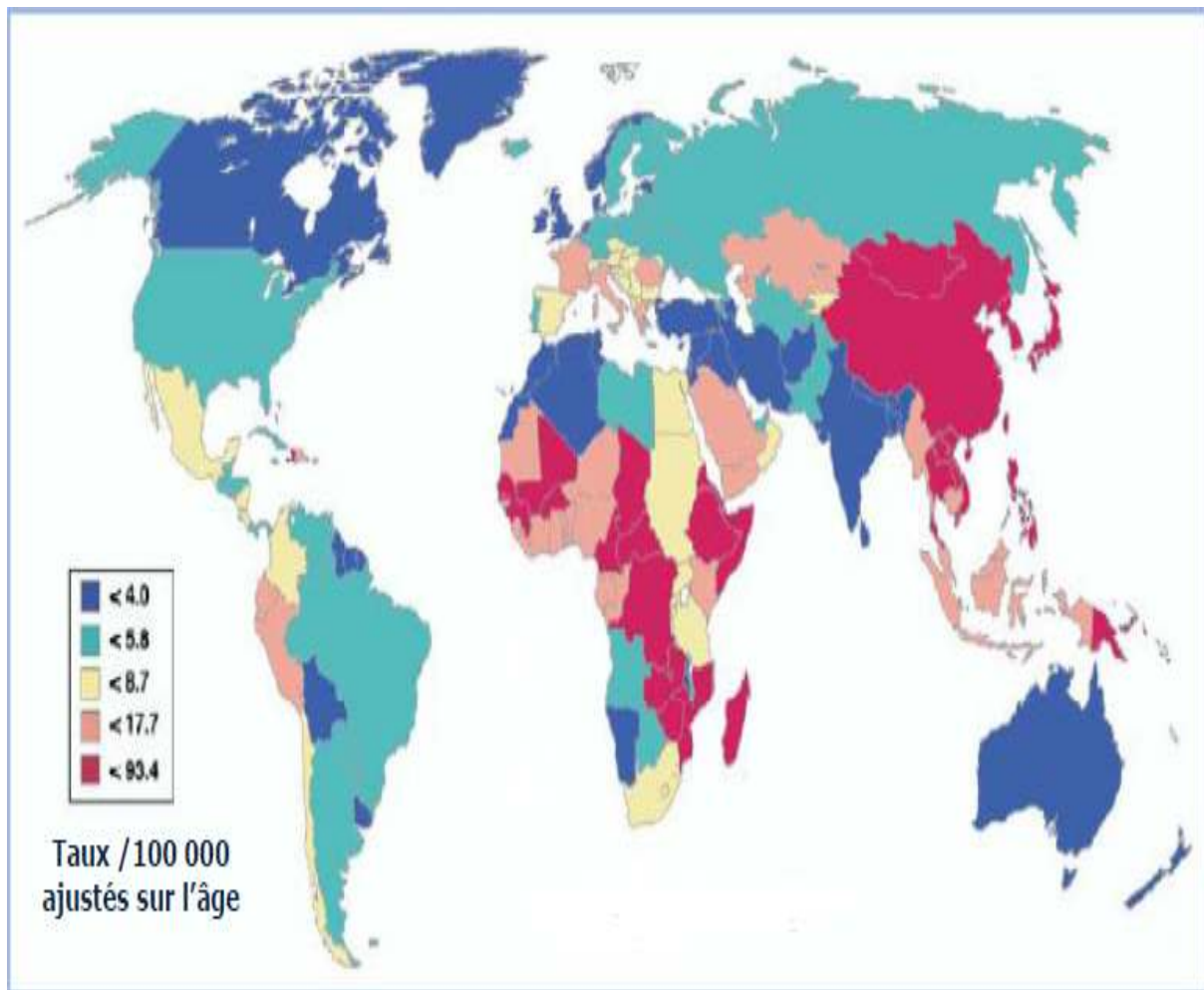
La forme la plus courante de cancer primitif du foie, également appelé carcinome hépatocellulaire (CHC) est un des cancers les plus fréquents dans le monde. Le CHC se développe généralement sur une cirrhose. Cette association fréquente rend le pronostic de CHC sombre et le diagnostic précoce difficile (**Dos Santos,2006**).

### **II.2- Epidémiologie**

Dans le monde, c'est le 5ème cancer chez l'homme et le 7ème chez la femme (**Koudougou,2013**), particulièrement en Asie et en Afrique lié à la forte prévalence de l'infection chronique par le virus de l'hépatite B(VHB)(Fig.4) (**El Serag et Rudolph ,2007**).

Dans les pays occidentaux qui sont des zones d'endémie moyenne ou faible, l'augmentation d'incidence est associée dans 90 % des cas aux cirrhoses dues à l'alcool, et à l'hépatite virale C (**Guéguen et Le Maréchal,2012**).

Globalement, la médiane de survie des patients reste nettement inférieure à un an, en raison d'un diagnostic souvent tardif, empêchant la mise en oeuvre d'un traitement curatif (**Trinchet ,2009**).

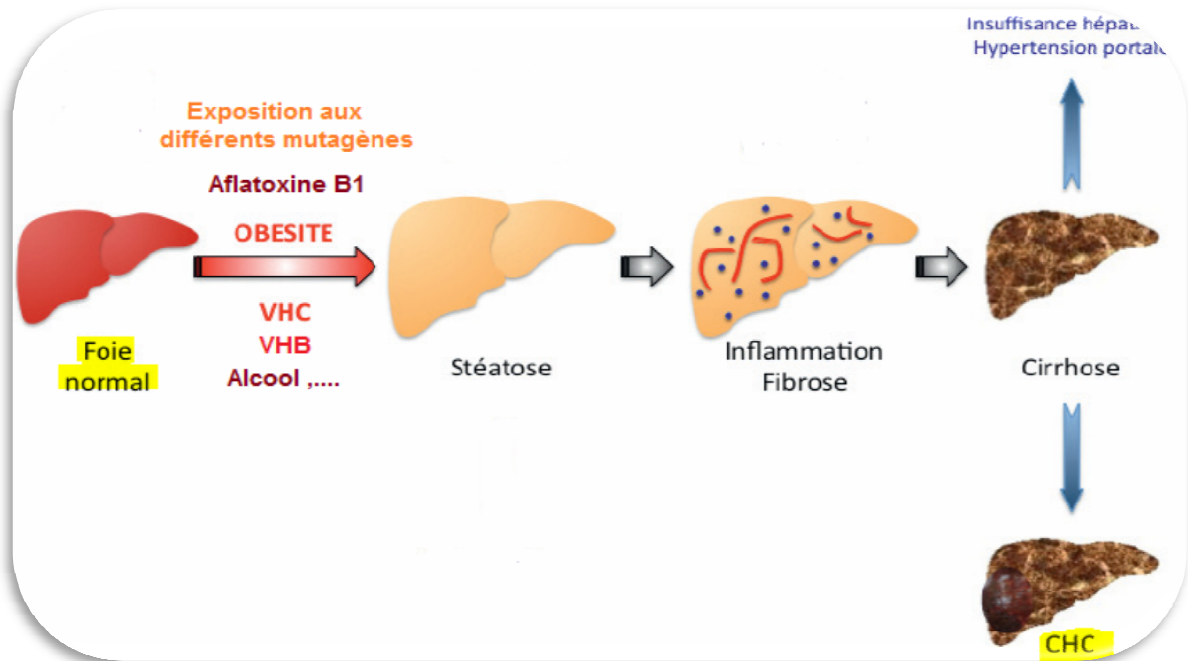


**Figure 4** : Grandes disparités géographiques d'incidence et de mortalité

### II .3- Facteurs de risque

Généralement, le CHC survient sur un foie cirrhotique dans 80 à 90% des cas.

La cirrhose est un état précancéreux et une complication majeure des hépatopathies chroniques d'origine différente . Les facteurs susceptibles de développer ces hépatopathies chroniques peuvent aussi les aggraver pour donner des cirrhoses, ces facteurs sont décrit ci-dessous (Fig 5) (**Foti, 2012**).



**Figure 5 :** Pathologies hépatiques prédisposant au développement du CHC

### II.3.1- Hépatite virale B

L'infection chronique au virus de l'hépatite B (VHB) est de loin le plus important facteur de risque de CHC puisqu'il est mis en cause dans la survenue de plus de la moitié des CHC.

Les patients porteurs chroniques de l'antigène HBs ont environ 100 fois plus de risque de développer un CHC que les patients non porteurs chroniques de l'Ag HBs.

La particularité du CHC lié au virus de l'hépatite B réside dans le fait que le CHC peut survenir même en l'absence de cirrhose hépatique, ceci étant expliqué par le mécanisme d'intégration du génome viral dans le génome des hépatocytes infectés. Le risque de développement du CHC augmente avec la charge virale B et la durée de l'infection (Seigne,2013).

### II.3.2- Hépatite virale C

L'incidence du CHC parmi les individus présentant une cirrhose post-virale C est de 3 à 5% par an. Alors que l'incidence du CHC lié à l'hépatite B est en diminution grâce aux programmes de vaccination, celle du CHC lié à l'hépatite C pour laquelle aucun vaccin n'est encore disponible est en nette progression. Ceci explique en partie l'augmentation de l'incidence du CHC dans les pays développés. A l'échelle mondiale, l'infection au virus de l'hépatite C (VHC) est mise en cause dans 31% des cas de CHC (Seigne,2013).

### II.3.3- L'aflatoxine B1( AFB1)

L'exposition à un carcinogène alimentaire dérivé des champignons *Aspergillus parasiticus* et *Aspergillus flavus*, l'AFB1, pouvant contaminer principalement les pousses de soja, de maïs et les cacahuètes, est un important facteur de risque de survenue de CHC en Afrique et en Asie. Il a été clairement démontré que les métabolites actifs de l'AFB1 sont de puissants mutagènes qui forment des adduits à l'ADN (Seigne,2013).

### **II.3.4- Ethylisme**

La consommation excessive d'alcool est largement reconnue comme étant un facteur de risque de développement du CHC. L'alcool pourrait être impliqué dans le développement du CHC via des mécanismes directs de toxicité sur le génome des hépatocytes, mais surtout et bien plus largement via un mécanisme indirect qui conduit à la constitution d'une cirrhose hépatique.

La relation dose-effet est mal connue, tout comme l'impact de la durée de consommation (**Seigne,2013**).

### **II.3.5-Stéatose dysmétabolique non-alcoolique**

Elle a pour cause l'obésité et/ou le diabète (**Trinchet,2009**).

Les patients présentant une NASH ont 3 à 15% de risque de développer une cirrhose hépatique, et par la même sont plus à risque de développer un CHC.

Il est important de noter que le stade de cirrhose associée à une NASH est un facteur favorisant mais non nécessaire au développement d'un CHC. En effet, plusieurs cas de CHC survenant chez des patients présentant une NASH sans cirrhose ont été décrits (**Seigne,2013**).

### **II.3.6- Autres facteurs de risque**

Les autres facteurs de risque de survenue d'un CHC comprennent toutes les autres conditions acquises ou héréditaires favorisant le développement d'une cirrhose hépatique, incluant l'hémochromatose, les hépatites auto-immunes, les cirrhoses biliaires primitives, les cholangites sclérosantes primitives, le déficit en alpha-1-antitrypsine et la maladie de Wilson.

Le tabac est actuellement considéré comme un cofacteur dans le développement du CHC, et non pas un facteur de risque indépendant (**Seigne,2013**).

## **II .5- Mécanismes moléculaires de la carcinogénèse hépatique**

Le développement de nouvelles techniques en génétique et en biologie moléculaire a permis de mieux comprendre la physiopathologie du CHC ainsi que les mécanismes moléculaires sous-jacents (**Fartoux,2009**).

Les deux acteurs les plus étudiés dans les CHC sont la voie Wnt/  $\beta$ -caténine et la voie de P53.

### **II.5- 1- Inactivation de la voie de p53**

L'activation de la voie du suppresseur de tumeur p53 limite la prolifération et la survie cellulaires en réponse à l'érosion des télomères (sénescence répllicative), induit un arrêt du cycle cellulaire suite à une activation oncogénique et joue un rôle primordial dans le maintien de l'intégrité du génome. Cette voie de signalisation peut être altérée de diverses manières dans le CHC (**Hussain et al.,2007**).

Dans les pays à forte exposition à la mycotoxine AFB1 et au VHB tels que la Chine et l'Afrique, une mutation au codon 249 de la p53 (Arg  $\rightarrow$  Ser) est très fréquemment observée chez les sujets atteints de CHC (> 50 %) (**Bressac et al.,1991 ; Lunn et al.,1997**).

La présence concomitante de la mutation p53Ser249 et d'une infection chronique par le VHB multiplie par 40 le risque de développer un CHC en comparaison à la présence d'un seul des deux facteurs, suggérant une synergie entre ces facteurs (Kirk et al.,2005). En l'absence d'exposition à l'AFB1, la prévalence de mutations somatiques dans le gène *P53* est d'environ 15 % à 40 % selon les séries analysées (Laurent-Puig et al.,2001 ; Tannapfel et al.,2001). Les altérations de p53 sont acquises tardivement au cours de la carcinogenèse hépatique et sont généralement observées dans des tumeurs peu différenciées, de grande taille et sont associées à une survie réduite des patients.

## II.5 -2 -Voie Wnt/béta-caténine

### 1- Multilocalisation et multifonctionnalité de $\beta$ -caténine

Les différentes fonctions de  $\beta$ -caténine dépendent de sa localisation, (Fig.6) (Larue et al.,2003).

- À la membrane,  $\beta$ -caténine est associée aux cadhérines et à l'alpha-caténine et est ainsi impliquée dans l'adhérence cellule-cellule. L'expression de la bêta-caténine a été démontrée au niveau de la membrane de l'épithélium sain.
- Dans le cytoplasme, elle est impliquée dans la voie Wnt, associée à GSK3 $\beta$ /Axine et APC.
- Dans le noyau, elle interagit avec les facteurs Lef/Tcf pour réguler la transcription de ses gènes cibles.

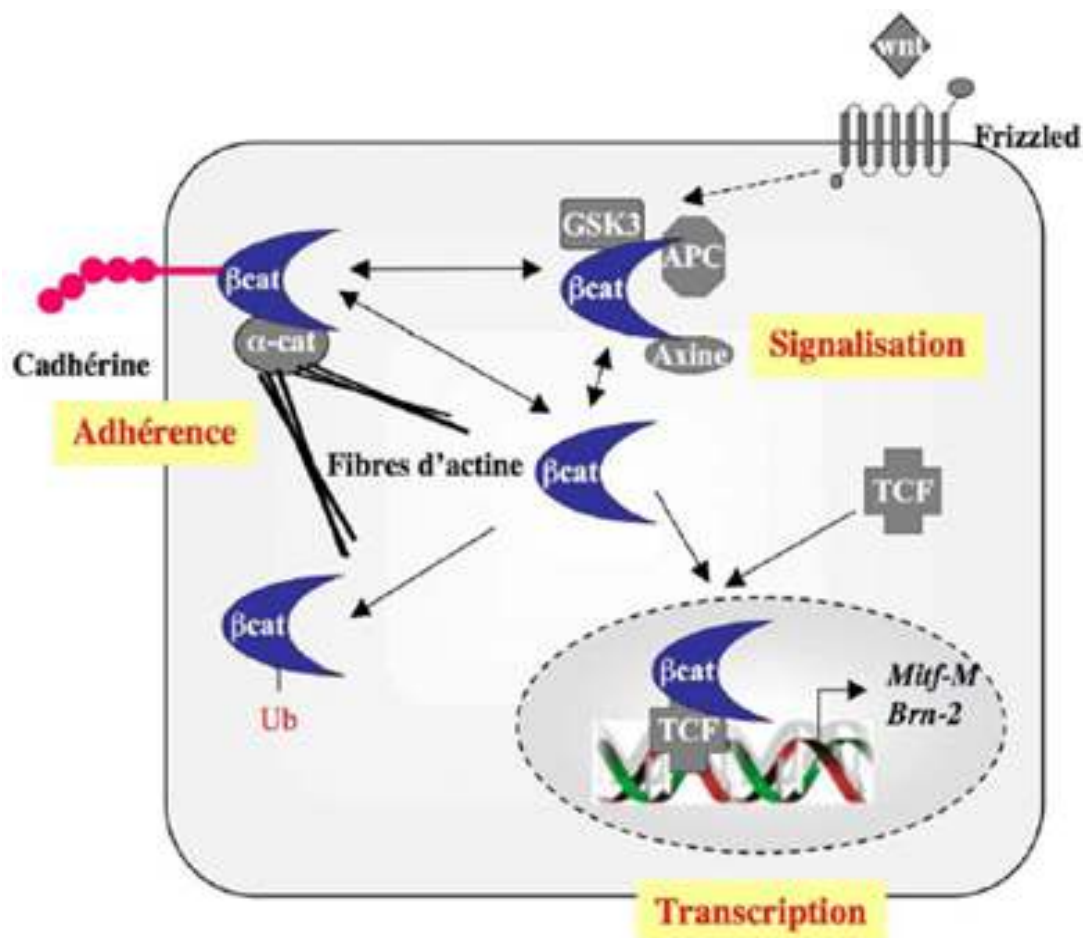


Figure 6: Multilocalisation et multifonctionnalité de  $\beta$ -caténine

## **2- Gène codant la $\beta$ -caténine**

La fréquence des mutations du gène CTNNB1 codant la  $\beta$ -caténine dans les CHC humains varie de 10 à 40 % en fonction des séries publiées ; leur fréquence est variable en fonction des étiologies (association avec le VHC et non le VHB ) et de l'origine ethnique (africains et asiatiques).

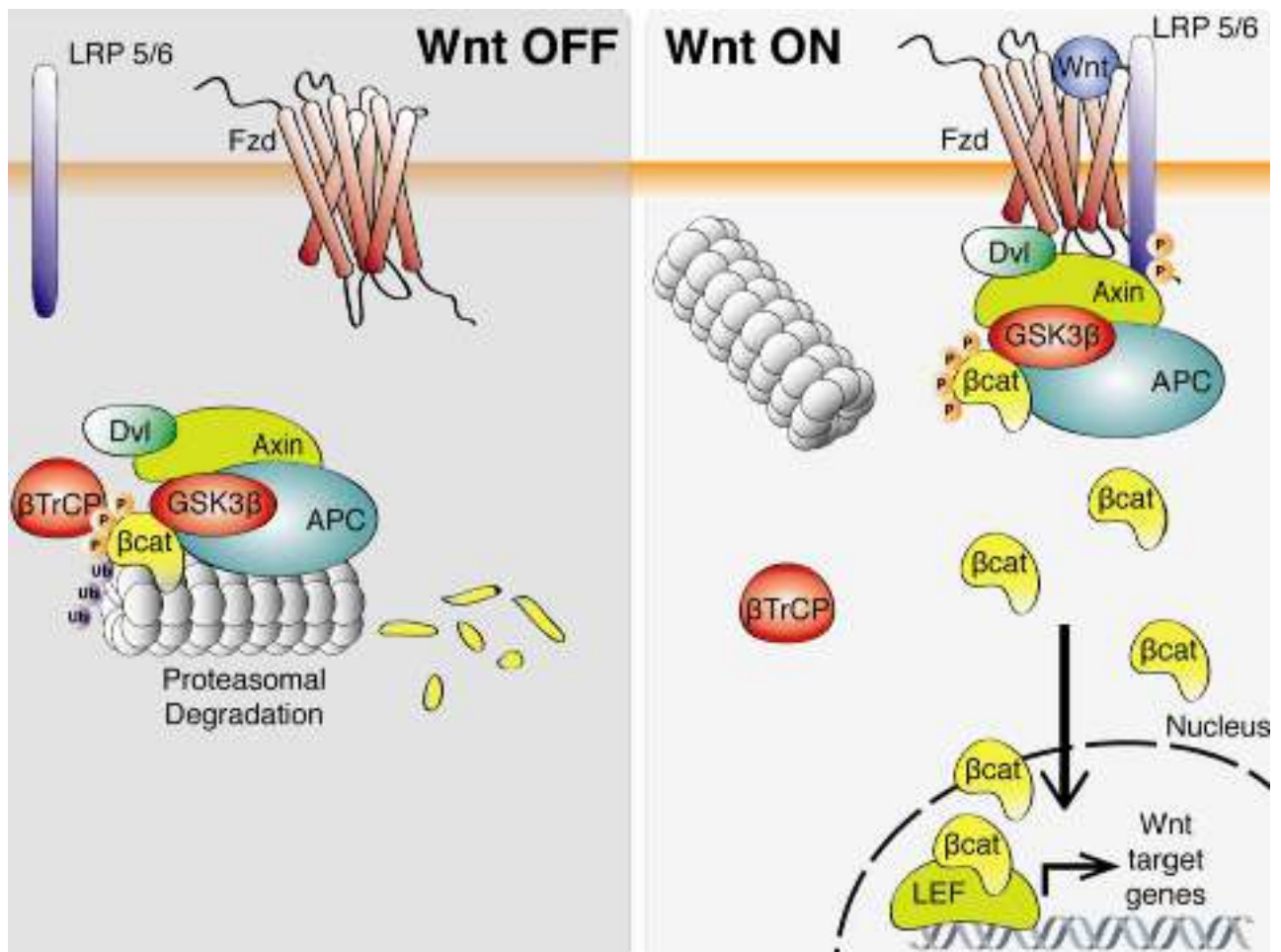
Le pronostic des tumeurs avec CTNNB1 muté est très variable et dépend des techniques de détection utilisées (biologie moléculaire versus IHC). Des études complémentaires seront nécessaires pour affiner la valeur pronostique des mutations de ce gène dans le CHC (**Guéguen et Le Maréchal,2012**).

## **3- Activation de la voie Wnt/ $\beta$ -caténine**

La voie de transmission du signal Wnt relayée par la  $\beta$ -caténine est essentielle au cours du développement embryonnaire (prolifération, mobilité cellulaire) mais aussi dans le contrôle de la prolifération cellulaire chez l'adulte (**Cadiganet Nusse, 1997**) .

L'activation de cette voie met en jeu la fixation de ligands de la famille Wnt à un récepteur transmembranaire de la famille frizzled (Fz), la phosphorylation/activation de la kinase cytoplasmique (Dvl) et l'inactivation consécutive d'un complexe multiprotéique constitué notamment des protéines APC, axine (1 et 2) et de la sérine/thréonine kinase GSK-3b. Il en résulte une inhibition de la phosphorylation et de la dégradation de la  $\beta$ -caténine qui transloque au noyau, permettant ainsi l'expression de ses fonctions transactivatrices en association avec les facteurs de transcription de la famille LEF/TCF ( Fig 7) (**Nibaldo et Varela-Nallar,2013**).





**Figure 7 :** Voie de signalisation Wnt/  $\beta$ -caténine (activée et inactivée)

#### 4- Anomalies génétiques altérant la voie Wnt/ $\beta$ -caténine

Ces mutations ont été décrites pour la première fois en 1998 dans le CHC, elles induisent une accumulation cytoplasmique et nucléaire de la  $\beta$ -caténine ce qui provoque une dérégulation de la transcription de nombreux gènes impliqués dans la machinerie cellulaire hépatocytaire (**Guéguen et Le Maréchal, 2012**).

Divers mécanismes participent à l'activation de cette voie dans le CHC . En tout premier lieu, des mutations somatiques dans le gène CTNNB1 codant la  $\beta$ -caténine, qui affectent les sites de phosphorylation par la GSK-3b, sont observées dans 18 % à 41 % des cas de CHC (**de La Coste et al., 1998 ; Legoix et al., 1999**).

Des inactivations de l'axine 1 (5-14 %) et de l'axine 2 (3-10 %) par délétions et/ou mutations ponctuelles ont également été rapportées (**Taniguchi et al., 2002 ; Satoh et al., 2000**).

Un nombre important de CHC présentent une accumulation de la  $\beta$ -caténine en l'absence de mutations, suggérant que d'autres mécanismes participent à l'activation de cette voie. Ainsi, des travaux récents ont fait part d'une très fréquente surexpression du récepteur Fzd-7 (**Merle et al., 2004**).

La peptidyl-propyl-isomérase Pin1, qui est surexprimée dans environ 50 % des CHC, stabilise la  $\beta$ -caténine en inhibant son interaction avec la protéine APC (**Pang et al., 2004**).

L'expression d'inhibiteurs de Dvl tels que HDPR1 et Prickle-1 est également diminuée dans environ 55 % des CHC (**Yau et al., 2005 ; Chen et al., 2006**).

### **III. Dépistage Diagnostique**

#### **III.1 - Dépistage**

Le dépistage du CHC est fondé sur la réalisation d'une échographie hépatique et d'un dosage de la concentration sérique d'alpha-foetoprotéine (AFP) tous les six mois. Il a pour but d'identifier le cancer à un stade accessible à un traitement curatif. Il est recommandé chez tous les patients atteints de cirrhose, principal facteur de risque de survenue du CHC (**Trinchet, 2009**).

#### **III.2 - Diagnostic**

Il est habituellement envisagé après la découverte d'une lésion focale nodulaire hépatique à l'échographie, ou à l'occasion de symptômes en cas de tumeur évoluée.

##### **III.2.1- Clinique**

Le diagnostic se fait devant une augmentation du volume de l'abdomen ou de masse abdominale associée, en cas de tumeur très volumineuse, à des douleurs ou à des troubles digestifs.

##### **III.2.2 -Biologie**

L'examen en laboratoire révèle une anémie, une leucocytose, souvent une petite élévation de la bilirubine, une augmentation de la phosphatase alcaline et des transaminases.

Il y'a aussi des marqueurs tumoraux tels que l'alpha-foetoprotéine (AFP) et l'antigène carcino-embryonnaire (ACE) qui peuvent être dosés au cours du CHC (**Khan et al., 2009**).

##### **III.2 -3 -Imagerie**

Après la détection d'une lésion nodulaire lors de la surveillance par échographie, différentes approches sont proposées, fondées sur la taille du nodule et les résultats de l'imagerie. Les deux meilleures techniques d'imagerie diagnostique sont le scanner hélicoïdal et l'IRM avec injection de produit de contraste qui ont une efficacité dépassant 80 % (**Colli et al., 2006**).

##### **III.2-4 -Examen anatomopathologique**

En cas d'imagerie atypique, ou en l'absence de cirrhose, la ponction-biopsie hépatique (PBH) échoguidée sur la tumeur et sur le foie non tumoral avec examen anatomopathologique est indispensable.

L'examen anatomopathologique apporte des éléments pronostiques de plus en plus sophistiqués dans le domaine du CHC. De nombreuses études pour certaines déjà anciennes ont mis en évidence des facteurs morphologiques à valeur pronostique permettant de prédire le risque de récurrence après résection chirurgicale;

ces facteurs identifiés de façon récurrente d'une étude à l'autre sont maintenant bien validés. Il s'agit à la fois de paramètres issus de l'examen macroscopique : caractère uninodulaire, multinodulaire, massif de la tumeur, taille de la ou des tumeurs, présence d'une capsule, d'une invasion macrovasculaire, de nodules satellites, caractère curatif de la chirurgie et de l'examen microscopique : grade d'Edmondson ou grade nucléaire, index mitotique, invasion vasculaire microscopique. Parmi ces différents paramètres ressortent en analyse multivariée la présence ou non d'une invasion microvasculaire et le grade nucléaire (**Lauwers et al.,2002**).

**Etude immunohistochimique** : utile dans les diagnostics différentiels de CHC, plusieurs immunomarqueurs sont utilisés (Ag hépatocyttaire ,CK8,CK18,glypican 3...)

La recherche de marqueurs pronostiques a fait l'objet de plusieurs études utilisant la bêta-caténine, la P53, l'IGF...

#### **III.2-4-1- Classification d'Edmondson et Steiner**

Elle établit 4 grades selon le degré de différenciation cellulaire (**Reynès, 2002**).

**Grade I** : Il s'agit du CHC bien différencié qui pose souvent un problème de diagnostic différentiel avec un adénome. Il est caractérisé par une architecture tumorale trabéculaire, des cellules régulières et une vascularisation sinusoidale conservée.

**Grade II** : Correspond à un CHC constitué de travées un peu plus épaisses dans lesquelles les cellules tumorales sont plus irrégulières avec des nucléoles bien visibles. Quelques structures pseudo-glandulaires sont présentes .

**Grade III** : Correspond à un CHC moyennement différencié. Les travées sont plus épaisses, les formations pseudo-glandulaires plus nombreuses. On peut observer des cellules tumorales géantes.

**Grade IV** : la tumeur est peu différenciée à la fois dans son architecture et dans l'aspect des cellules. On observe une très grande irrégularité de taille et de forme des cellules avec une architecture massive (très peu d'aspect Trabéculaire).

#### **III.2-4-2 -Variantes morphologiques du CHC**

Ce sont des formes particulières du CHC , on distingue les formes suivantes: (**Schlageter et al.,2014**).

- 1- CHC fibrolamellaire** : est un sous-type rare d'abord décrit par Edmondson , présentant moins de 1% des CHC. Il survient chez les sujets jeunes, habituellement sur un foie non cirrhotique et serait de meilleur pronostic. Il présente beaucoup de septa fibreux et peut avoir une zone centrale avec des calcifications possibles. Histologiquement les cellules de la tumeur se développent dans les trabécules qui sont séparées par les fibres de collagène.

- 2- **CHC sarcomateux** : c'est un autre sous-type qu'on peut trouver seul, mais aussi associé à un CHC classique. Dans le cas où il n'y a pas de CHC classique adjacent, on le distingue difficilement du fibrosarcome et du leiomyosarcome.
- 3- **CHC squirreux** : cette forme montre une fibrose diffuse au niveau des sinusoides avec atrophie des travées hépatocytaires. Elle peut apparaître en post-thérapeutique ou dans des tumeurs non traitées et peut être confondue avec un cholangiocarcinome à l'imagerie.
- 4- **CHC à cellules claires** : Il est caractérisé par un cytoplasme clair contenant du glycogène et de quantités variables de vésicules lipidiques. Une prédominance masculine a été rapportée dans ce type particulier de CHC.
- 5- **CHC avec stroma lymphoïde** : c'est une entité seulement décrite dans quelques cas. Cette tumeur se compose d'un infiltrat inflammatoire massif avec peu de cellules tumorales identifiables par HE. La plupart des cellules sont des lymphocytes, quelques macrophages, cellules géantes, et des neutrophiles peuvent également être détectés.

#### **IV- Classification pré-thérapeutique**

La classification TNM (OMS 2010) ne tient compte que des caractéristiques tumorales. (**Annexe 1 , Tableau 1**) (**Dilou et al., 2004**). L'évaluation de la taille tumorale (T1 à T4) est basée sur le nombre et la localisation des nodules, la taille du plus grand nodule et la présence d'une invasion soit vasculaire, soit d'un organe de voisinage. Les critères pour le statut ganglionnaire et métastatique (N et M) sont identiques à ceux des autres tumeurs solides.

Elle a pour but d'évaluer le pronostic et guider le choix de la thérapie.

#### **V- Traitements**

Les nombreux traitements proposés peuvent être divisés en deux catégories principales (**Annexe 2 ,Tableau 2**) (**Trinchet,2009**).

##### **V- 1- Méthodes à visée curative**

Qui sont la transplantation, la résection et la destruction percutanée.

##### **V -2- Méthodes palliatives**

La chimio-embolisation (et ses variantes) , la radiothérapie intra-artérielles et le traitement médical.

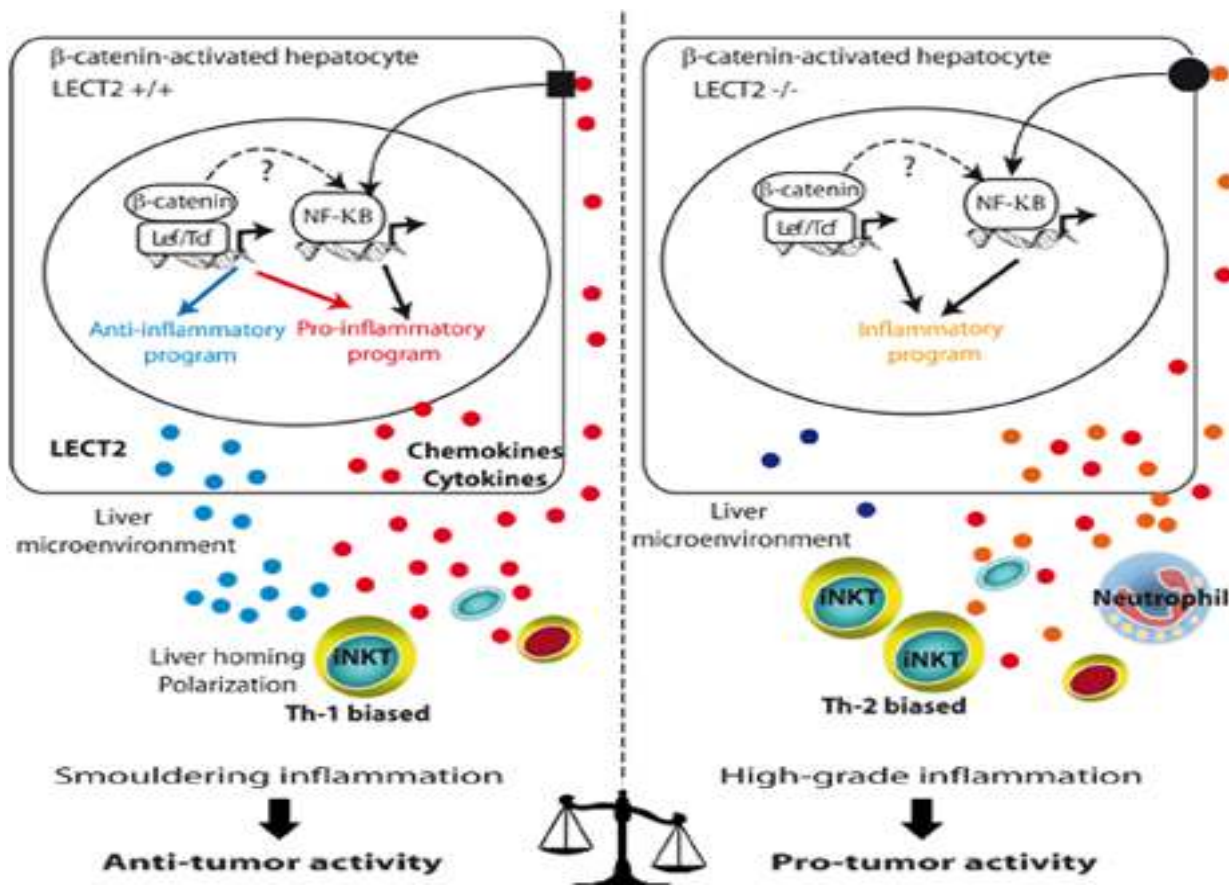
##### **V-3 - Immunothérapie**

Comme la survenue du CHC est fréquemment liée à une **inflammation chronique** du foie, des études récentes cherchent à cibler les composantes de la réponse immunitaire au cours du CHC pour aboutir enfin à la contrôler.

La signalisation oncogénique de la bêta-caténine dans l'hépatocyte induit un programme pro-inflammatoire, directement contrôlé par la bêta-caténine, et l'activation de NF-kB. Cette activation conduit à une réponse inflammatoire très particulière dont l'intensité détermine le degré d'agressivité des tumeurs. Des recherches ont pu identifier le facteur (LECT2), cible de la bêta-caténine, et les invariants Natural Killer T (iNKT) comme deux effecteurs interconnectés de l'inflammation induite par l'activation de la bêta-caténine

La délétion génétique de LECT2 ou des iNKTs conduit à la formation de CHC très agressifs avec développement de métastases pulmonaires. Ainsi, Elles ont identifié l'inflammation comme composante fondamentale de la tumorigenèse induite par la bêta-caténine : en activant à la fois des médiateurs pro- ou anti-inflammatoires, la signalisation bêta-caténine est capable de mettre en place un microenvironnement inflammatoire conditionnant le développement tumoral (Fig.8) (Anson et al.,2012).

Ces résultats permettent d'expliquer que les tumeurs mutées pour la bêta-caténine sont de meilleur pronostic et ouvrent de nouvelles perspectives thérapeutiques permettant de réguler l'expression de LECT2 et le fonctionnement des iNKT, afin d'améliorer la réponse immunitaire anti-tumorale (Anson et al., 2012).



**Figure 8 :** Le contrôle du microenvironnement inflammatoire par la bêta-caténine .

# *CHAPITRE II*

## *Matériel et méthodes*

Notre étude a été réalisée au Service d'Anatomie Pathologique du CHU Mustapha du 1er janvier au 31 Mai 2015.

Ce travail consiste en une étude rétrospective s'étendant sur 4 années (2011 – 2014).

## II-1- Population d'étude

La population d'étude était constituée de 35 prélèvements, dont 19 hommes et 16 femmes provenant des différents services du CHU Mustapha.

Le prélèvement consiste en une ponction biopsie hépatique (PBH) à visée diagnostique histologique : présence ou non d'une cirrhose hépatique, tumeur maligne (cancer primitif du foie, métastases hépatiques) ou bénigne (adénome, hyperplasie nodulaire focale) du foie. La ponction dans ce cas s'effectue sous contrôle échographique ou scannographique.

## II-2- Matériel non biologique

### -Appareillage

Appareil d'inclusion	LEICA EG 1150 H
Circulateur	LEICA TP 1020
Distillateur	Gessellschaft fur labortechnikmbH
Etuve	Memmert
Microscope optique	LEICA DM 750
Microtome rotatif	LEICA RM 2125 RTS
Plaque chauffante	LIECA HI 1220
Plaque froide	LEICA EG 1150 C
Appareil photographique numérique	

**Tableau 3** : Matériel non biologique : appareillage

### - Matériel et solutions utilisés en histochimie (coloration usuelle HE)

Matériel et verreries	Réactifs
-----------------------	----------

<ul style="list-style-type: none"> <li>- Lames d'étalement</li> <li>- Lamelles</li> <li>- Cassettes d'inclusion</li> <li>- Moules d'inclusion</li> <li>- Panier en métal</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Formol à 10%</li> <li>- Ethanol à 80,90 et 100%</li> <li>- Eau distillée et eau de robinet</li> <li>- Paraffine</li> <li>- Hématoxyline de HARRIS ACCUSTAIN</li> <li>- Eosine</li> <li>- Xylène</li> <li>- Acide chlorhydrique</li> <li>-Eau amoniaquée</li> <li>- Eukitt</li> </ul>
---	---

**Tableau 4 :** Matériel non biologique utilisé en histochimie

**- Matériel non biologique utilisé en immunohistochimie**

Matériel et verreries	Réactifs
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Lames silanisées</li> <li>- Lamelles</li> <li>-Micropipettes</li> <li>- Pannier en verre</li> <li>- Dako pen</li> <li>- Etuits</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Diluant</li> <li>- Solution PH(9)</li> <li>- Eau oxygénée Peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 3%</li> <li>- Solution d'anticorps primaire (Dako) : <ul style="list-style-type: none"> <li>- Ac anti β-caténine</li> <li>- Ac anti Ag hépatocytaire</li> </ul> </li> <li>- Solution PBS : chlorure de sodium, phosphate disodique, phosphate monopotassique et un peu de chlorure de potassium .</li> <li>- Solution d'anticorps secondaires ( Dako)</li> <li>- Solution de blocage de la peroxydase</li> <li>- Solution DAB chromogène</li> <li>-Ammoniaque</li> <li>- Colorant hématoxyline de MAYER</li> <li>- Eukitt</li> </ul>

**Tableau 5 :** Matériel non biologique utilisé en immunohistochimie



## II-3 - Méthodes

Les 02 techniques réalisées sont :

- 1- L'histochimie (HE)
- 2- L'immunohistochimie utilisant 2 Ac :
  - A visée diagnostique : Ac anti -Ag hépatocytaire
  - A visée pronostique : Ac anti bêta-caténine

### 1- Histochimie

Elle se fait en plusieurs étapes

**1-1 -Fixation** : a pour but la conservation des structures et le durcissement des pièces. Elle doit se faire immédiatement après le prélèvement, par immersion du matériel dans un grand volume de liquide fixateur. Le fixateur utilisé est le formol dilué à 10%. La durée de la fixation varie selon le volume des prélèvements (de 4 à 6h pour la PBH) .



**Figure 9** : Fixation dans du formol dilué à 10%

**1-2- Circulation** : Comme la paraffine est hydrophobe, le prélèvement doit d'abord subir une déshydratation (par immersion dans des bains d'alcool de degré croissant puis dans des bains de xylène).



**Figure 10** : Circulateur automatique (LEICA TP 10 20)

**1-3- Inclusion (enrobage)** : a pour but de permettre la réalisation de coupes fines et régulières. Le milieu d'inclusion le plus utilisé est la paraffine. Le prélèvement est mis dans un moule contenant de la paraffine fondue par chauffage et devenue liquide, qui infiltre alors toute la pièce. Après refroidissement, on se trouve en présence d'un bloc de paraffine, dur, à l'intérieur duquel la pièce prélevée est incluse.



**Figure 11** : Appareil d'inclusion

**1-4 - Microtomie** : Les coupes du bloc de paraffine sont faites avec un microtome permettant de réaliser des tranches de section (coupes) de 2 à 5  $\mu$  m d'épaisseur. Les coupes sont recueillies sur des lames de verre.



**Figure 12 :** Microtome

**1-5 - Etalement :** Mettre le ruban obtenu dans un bain marie puis étalement sur une lame

#### **1-6 – Préparation à la coloration**

- Déparaffinage : Etuve pendant 24h puis dans un bain de xylène pendant 20 minutes.
- Réhydratation par des solutions alcooliques de plus en plus diluées. Quand la réhydratation est achevée, les coupes sont colorées.

#### **1-7 - Coloration Hématoxyline Eosine (HE)**

- Les lames sont d'abord plongées dans un bac à Hématoxyline de Harris (2 à 3 minutes), rincées dans un bain d'eau de robinet puis plongées une à deux fois dans de l'eau acidifiée ( 5 ml d'acide chlorhydrique concentré dans 1L d'eau distillée) puis rincées à l'eau de robinet pendant 2 minutes. Elles sont ensuite plongées dans un bac d'eau ammoniacée (2ml d'ammoniaque dans 1L d'eau distillée) puis rincées à l'eau de robinet pendant 2 minutes.

Les lames sont colorées à l'Eosine pendant 2 à 3 minutes puis rincées à l'eau de robinet. Enfin les lames sont séchées à la plaque chauffante.

**1-8- Montage :** les coupes colorées sont montées entre lame et lamelle avec l'Eukitt.

Cette opération confère une protection contre les bris mécaniques et la dégradation chimique des colorations.

**1-9- Lecture :** est effectuée au microscope optique , aux grossissements (X100 , X200 et X400)

Résultats de la coloration:

- ✓ Noyau (bleu foncé)
- ✓ Cytoplasme et tissu conjonctif (nuances de roses)

## 2- Immunohistochimie

- **Objectif** : Elle permet la révélation de protéines spécifiques et leur localisation cellulaire dans une coupe de tissu préalablement fixée et incluse en paraffine. Nous utilisons une technique d'immunohistochimie indirecte permettant une amplification de l'intensité du signal obtenu après le marquage d'une réaction antigène-anticorps.
- **Principe** : La méthode consiste à mettre en évidence un antigène grâce à la fixation d'un anticorps primaire puis celle d'un anticorps secondaire couplé à un polymère inerte qui porte des enzymes. Ce complexe est ensuite mis en évidence avec un révélateur dont l'hydrolyse produit un précipité de couleur marron. Les structures ayant fixé l'anticorps primaire sont donc facilement repérables avec cette coloration. Une contre-coloration à l'hématoxyline est effectuée, teintant les noyaux et les cytoplasmes en bleu. Toutes les structures apparaissent et le repérage microscopique des zones intéressantes est facilité .

### Mode opératoire

L'IHC se fait en plusieurs étapes

#### 1- Préparation des lames

- Des coupes de 2 à 3  $\mu\text{m}$  sont obtenues à partir du bloc contenant la pièce opératoire et sont étalées sur des lames silanisées (le silane est à base d'acétone et d'alcool, et permet de mieux fixer le coupeau via des liaisons hydrophobes) ;
- Mettre le bloc dans l'étuve à 54°C pendant 1h ou bien à 60 °c pendant 3 minutes pour le déparaffinage.
- Passage dans 4 bains de xylène (5 minutes chacun) afin d'éliminer l'excès de paraffine.
- Passage par 4 bains d'alcool à 100 %, 80 % et 70 %, (5 minutes chacun) en vue de déshydrater le prélèvement.
- Rinçage à l'eau de robinet puis à l'eau distillée pendant 5 minutes.
- Pré-traitement (ou démasquage antigénique) en immergeant les lames dans la solution aqueuse à PH= 9 (bêta-caténine, Ag hépatocytaire)
- Mettre les lames dans un bain marie à 95°C pendant 40 à 60 minutes afin de libérer les sites antigéniques
- Rinçage à l'eau de robinet puis à l'eau distillée (5 minutes) .

#### 2- Immunomarquage

- Encercler les fragments par un gel hydrophobe (Dako pen) pour empêcher les anticorps de diffuser sur toute la surface de la lame.
- Blocage de la peroxydase endogène : par ajout du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) pendant 5 minutes.
- Rinçage à l'eau distillée puis au PBS pendant 5 minutes .
- Application de l'anticorps primaire : Ag hépatocytaire et bêta-caténine (dilués à 1/200) pendant 40 minutes dans une chambre humide à température inférieure à 25 °c .



**Figure 13** : Anticorps primaires ( Ag hépatocytaire et bêta-caténine )



**Figure 14** : Application de l'Ac primaire

- Elimination de l'anticorps primaire puis rinçage au PBS ( 5 minutes)

- Application de l'anticorps secondaire pendant 40 minutes
- Elimination de l'anticorps secondaire puis rinçage au PBS (5 minutes).
- Révélation : Déposer le DAB+Chromogène
- Elimination du DAB quand la coloration marron apparait.

### 3- Contre coloration à l'hématoxyline

- Coloration des lames avec de l'hématoxyline de Mayer pendant 5 minutes puis élimination du colorant.
- Rinçage à l'eau de robinet (5 minutes) puis passage dans de l'alcool pour aider les lames à sécher.



**Figure 15** : Contre coloration par l'hématoxyline de Mayer

- Montage : Les coupes sont montées entre lame et lamelle avec l'Eukitt.
- Observation au microscope optique (X100, X200, X400).

### 4- Lecture

L'intensité de la coloration brune a été évaluée comme indicateur de l'expression de la bêta-caténine et de l'Ag hépatocytaire

# *CHAPITRE III*

## *Résultats et discussion*

### III.1 - Série

Du 1<sup>er</sup> janvier 2011 au 30 Septembre 2014, on a colligé **1532 PBH** au sein du laboratoire central d'anatomie et de cytologie pathologique du CHU Mustapha Alger Centre. **40 cas** de CHC ont été identifiés, dont **35** ont été retenus pour notre étude.

Le CHC dans notre série représente 2,28 % de la pathologie hépatique.

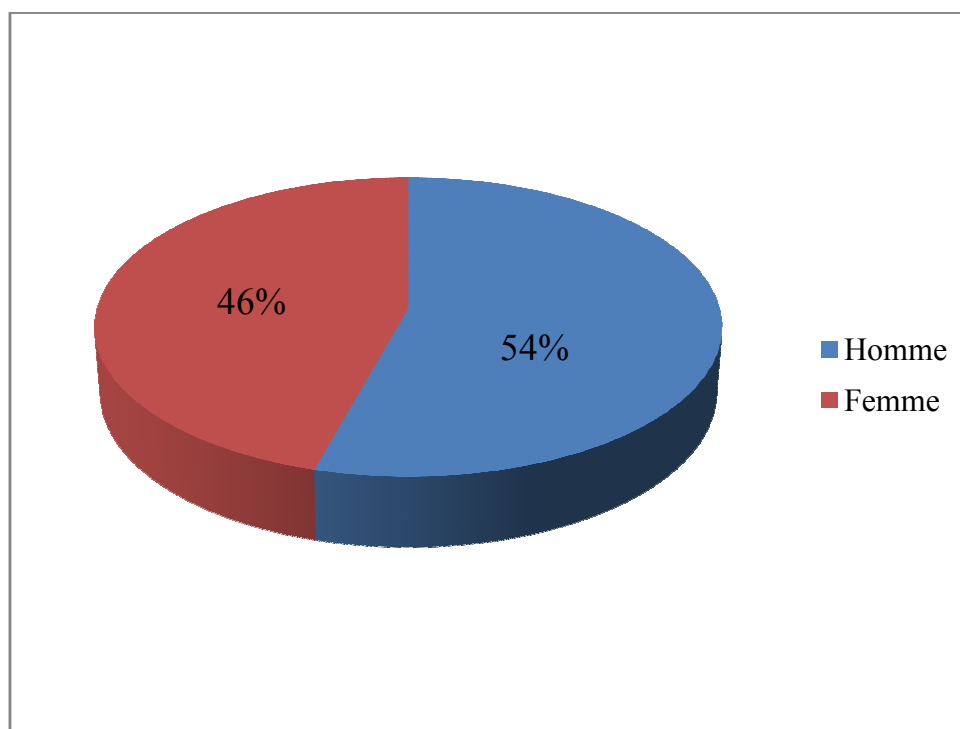
### III.2 - Paramètres épidémiologiques

#### III.2.1 - Sexe

Parmi les 35 cas, il y'a 19 hommes et 16 femmes. Le sexe ratio M/F est de 1,2.

Sexe	N. cas	%
Homme	19	54
Femme	16	46
Total	35	

**Tableau 6** : Répartition des CHC selon le sexe des malades



**Figure 16**: Répartition des CHC selon le sexe

#### III.2.2 - Age

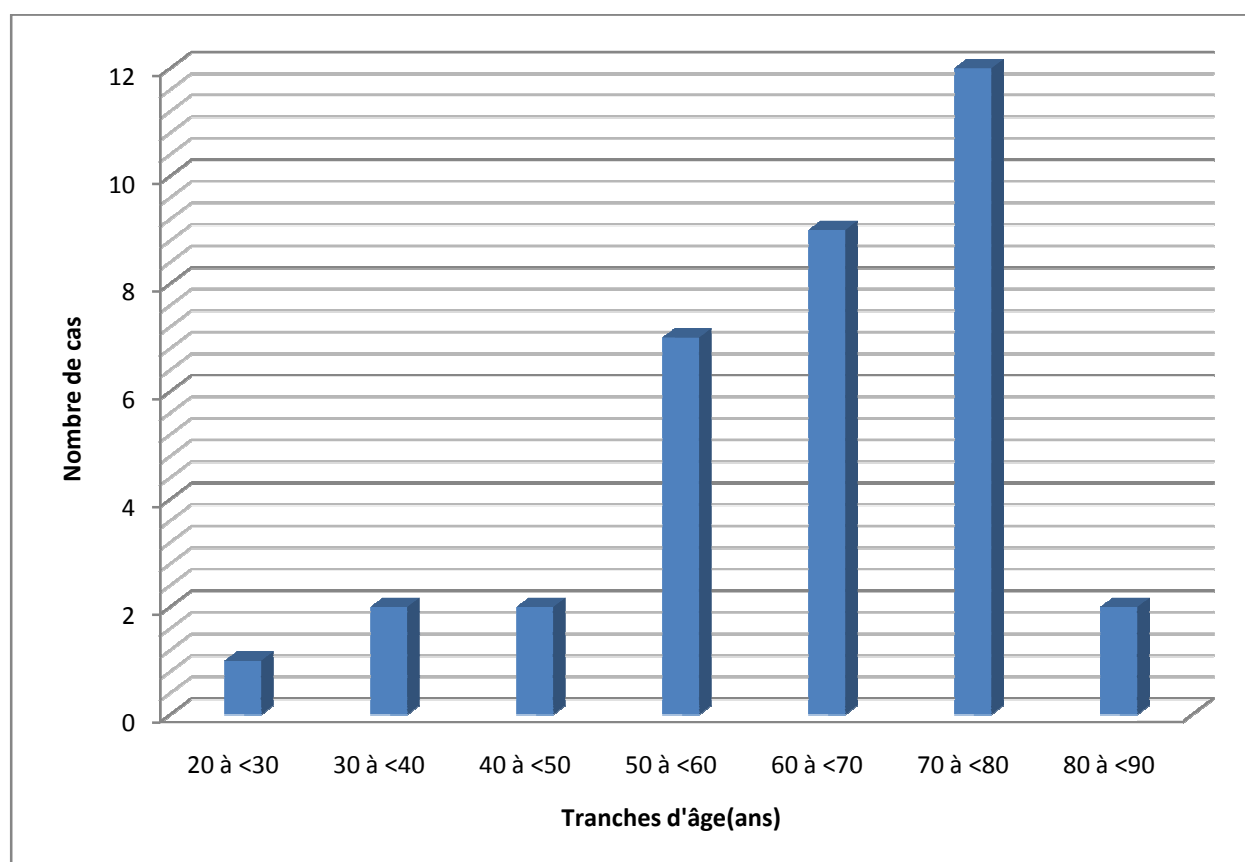
L'âge des patients de notre série varie entre 29 et 84 ans, avec un âge moyen de 62,4 ans et une médiane de 63 ans ..

La tranche d'âge comprise entre 70 et 80 était la plus touchée, soit 34 % des cas.



Classes d'âge(ans)	N. cas	%
20 à <30	1	3
30 à <40	2	5
40 à <50	2	6
50 à <60	7	20
60 à <70	9	26
70 à <80	12	34
80 à <90	2	6
Total	35	

**Tableau 7** : Répartition des CHC selon l'âge



**Figure 17**: Répartition des CHC selon l'âge

### III.3 – Paramètres cliniques

#### III.3.1 - Répartition des CHC selon l'hépatopathie préexistante

Dans notre série, seulement 1 cas de CHC s'est développé sur foie sain soit 2,85% des cas.

CHC développé sur cirrhose représente 60 % .

L'hépatopathie d'origine virale représente 22,85% (VHB+VHC).

Etiologie virale	N de cas	%
Hépatite virale B	4	11,42
Hépatite virale C	4	11,42

Cirrhose	21	60
----------	----	----

**Tableau 8** : Répartition des CHC selon l'hépatopathie pré-existante

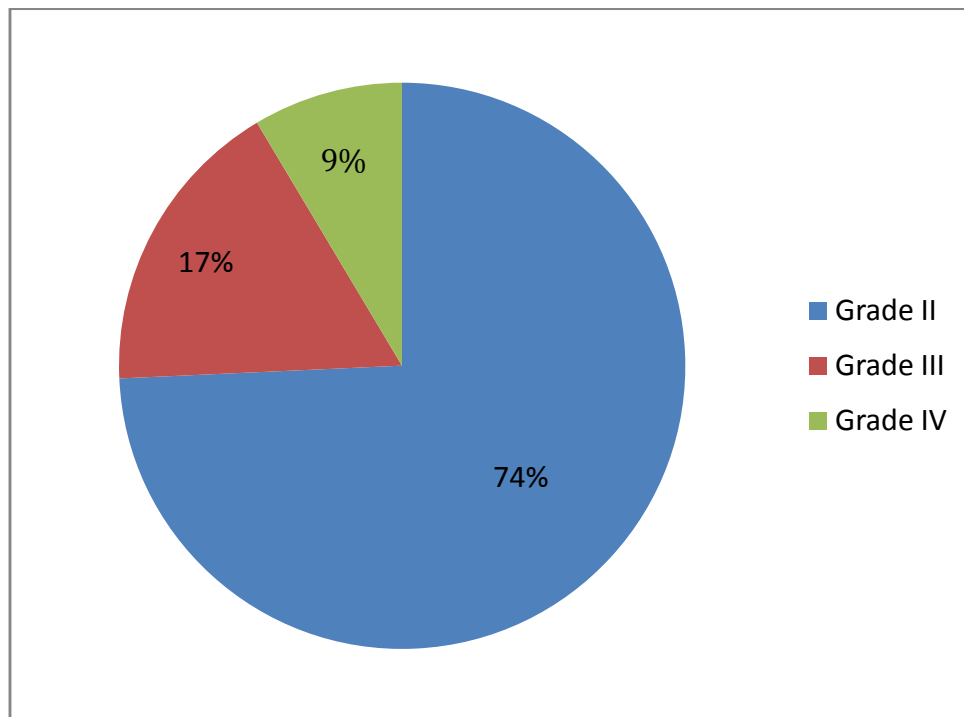
### III.4 - Paramètres anatomopathologiques

#### III.4.1 - Répartition des CHC selon leurs grades histologiques (classification d'Edmondson et Steiner)

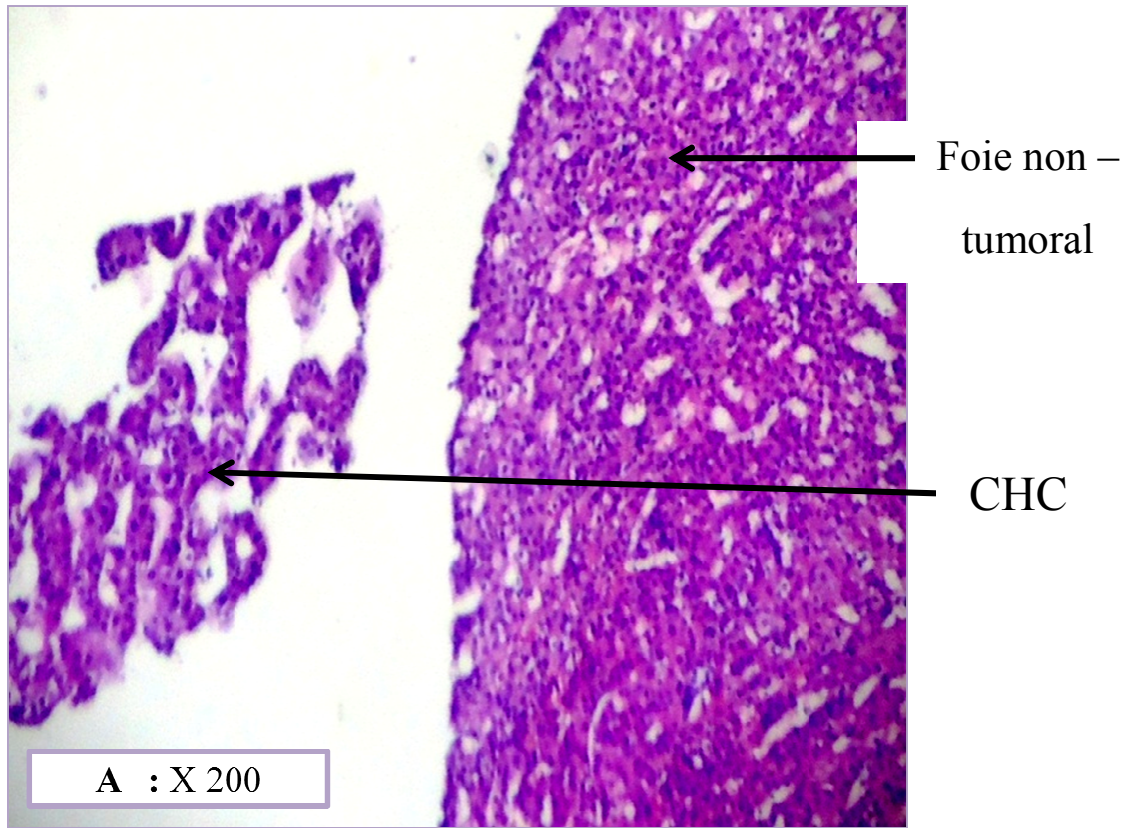
Le grade II représente 74% des cas , et c'est le plus fréquent , le grade III représente 17 % et le grade IV 9 % .

Grade histologique de la tumeur	N.cas	%
Grade II	26	74
Grade III	6	17
Grade IV	3	9
Total	35	

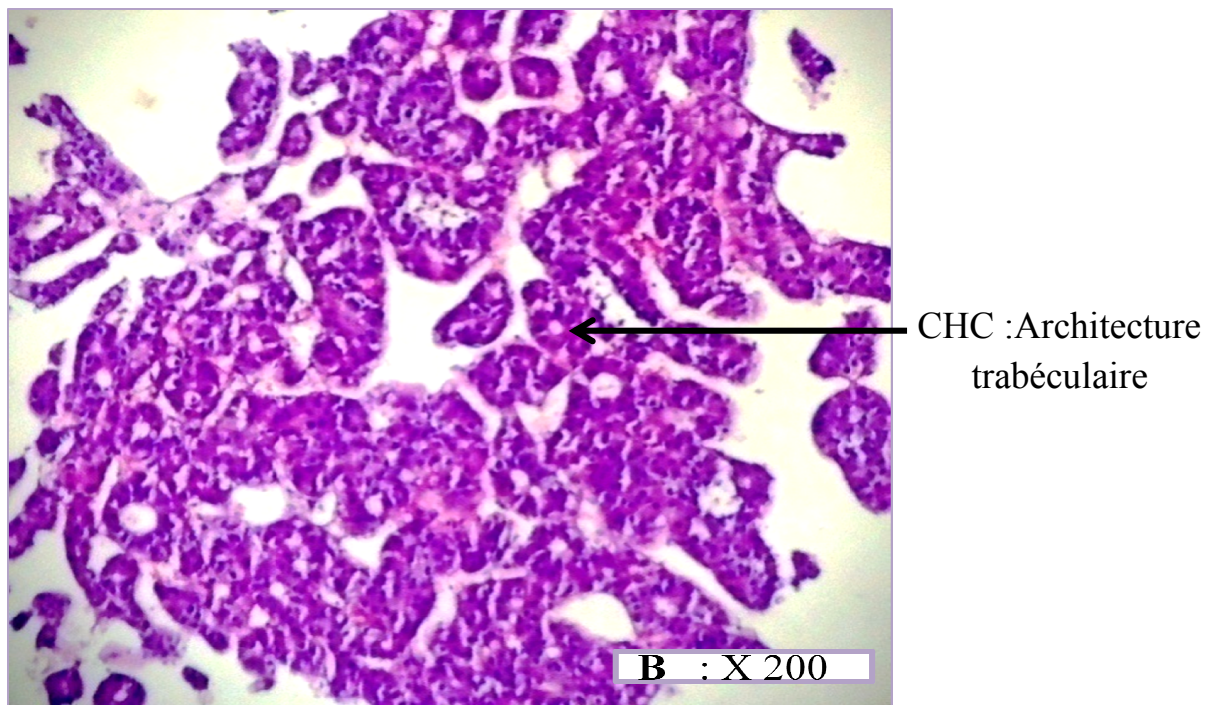
**Tableau 9** : Répartition des CHC selon le grade histologique (classification d'Edmonson et Steiner)



**Figure 18** : Répartition des CHC selon le grade histologique ( Classification d'Edmonson et Steiner)

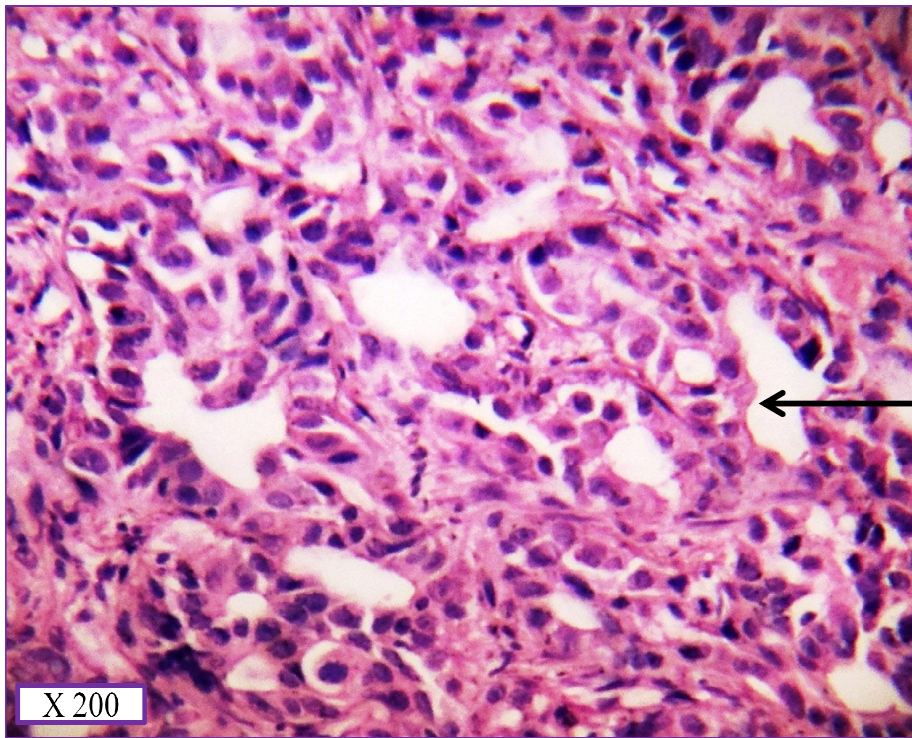


**Figure 19 :** Figure: CHC grade II (Edmonson et Steiner).(HE X200)



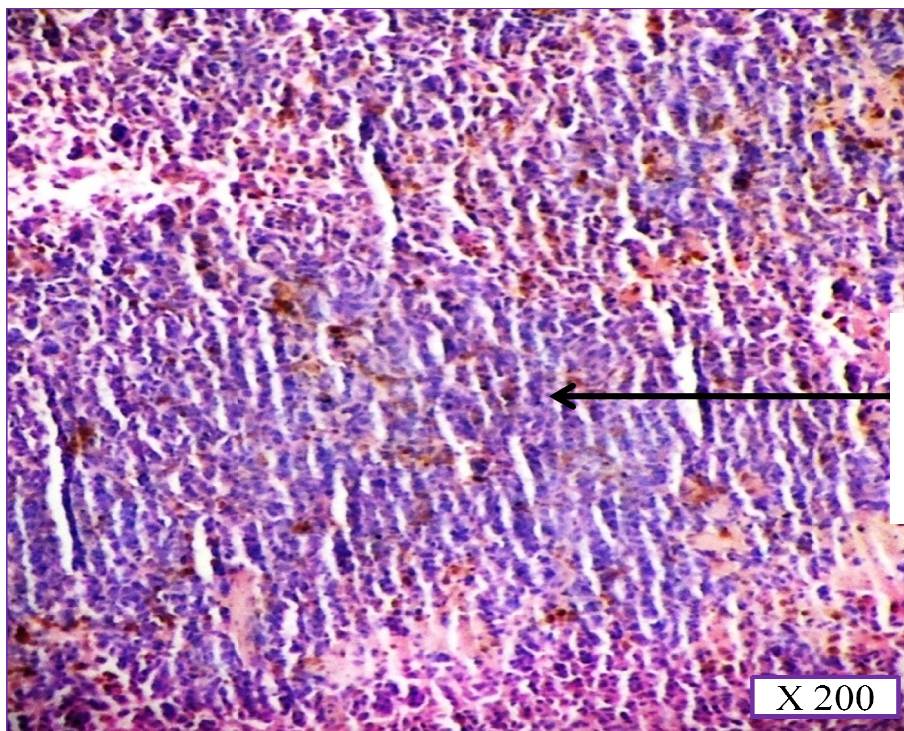
**Figure 20 :** CHC grade II (Edmonson et Steiner).(HE X200)





← CHC :Architecture  
acinaire

**Figure 21** : CHC grade III ( Edmonson et Steiner) . (HEX200)



← Architecture  
diffuse en nappes  
de cellules peu  
différenciées

**Figure 22** : CHC de grade IV (HEX200)

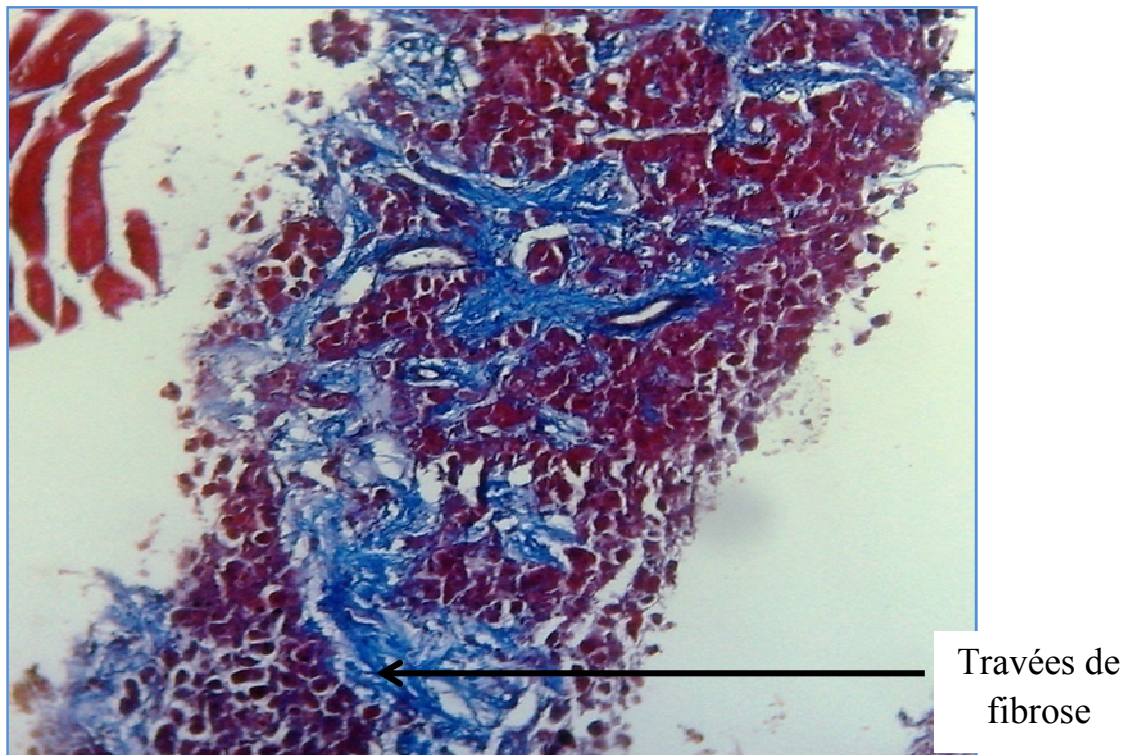
### III.4.2 – Variantes histologiques du CHC

Nous avons trouvés 02 variantes histologiques dans notre série qui sont :

le CHC fibrolamellaire et à cellules claires.

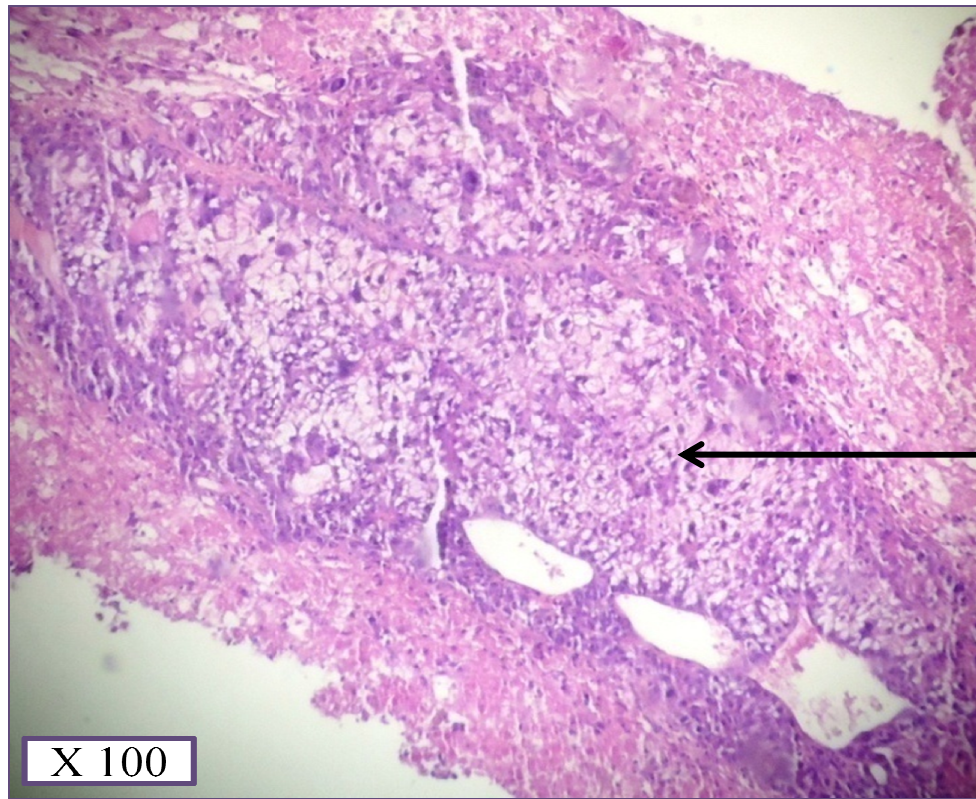
Variante / type histologique	N.cas
CHC fibrolamellaire	1
CHC à cellules claires	2

**Tableau 10 :** Variantes histologiques du CHC

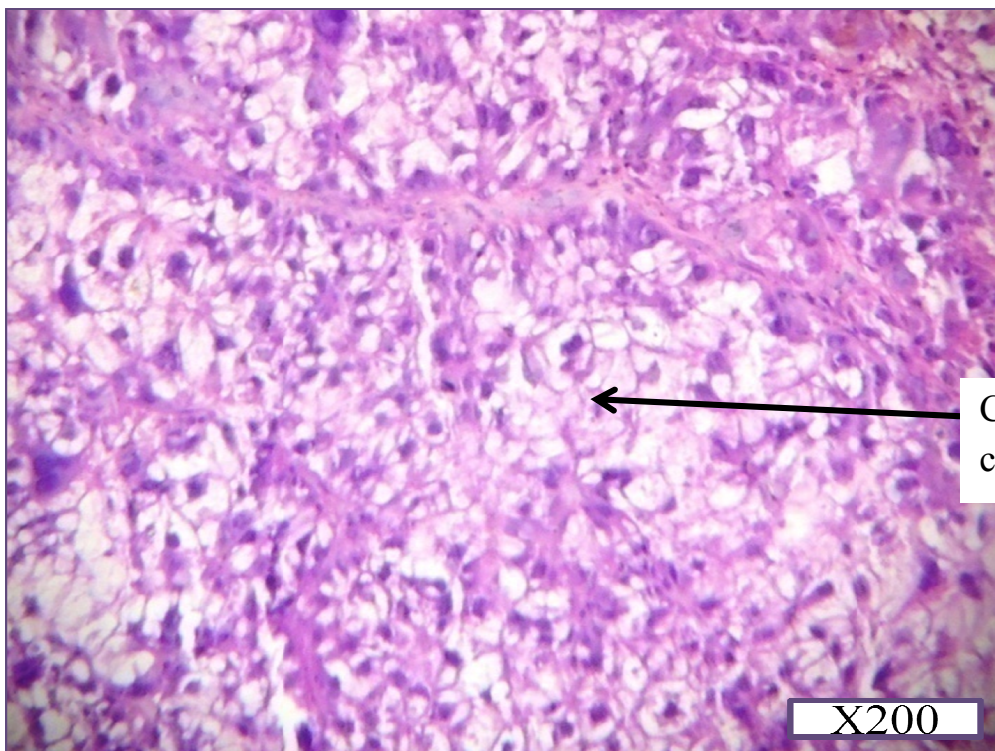


**Figure 23 :** CHC fibrolamellaire (Trichrome de Masson)





Zone claire



Cellules à cytoplasme clarifié

**Figure 24** : CHC à cellules claires . (HE X100) (HE X 200)

### III.4.3 - Etude immunohistochimique

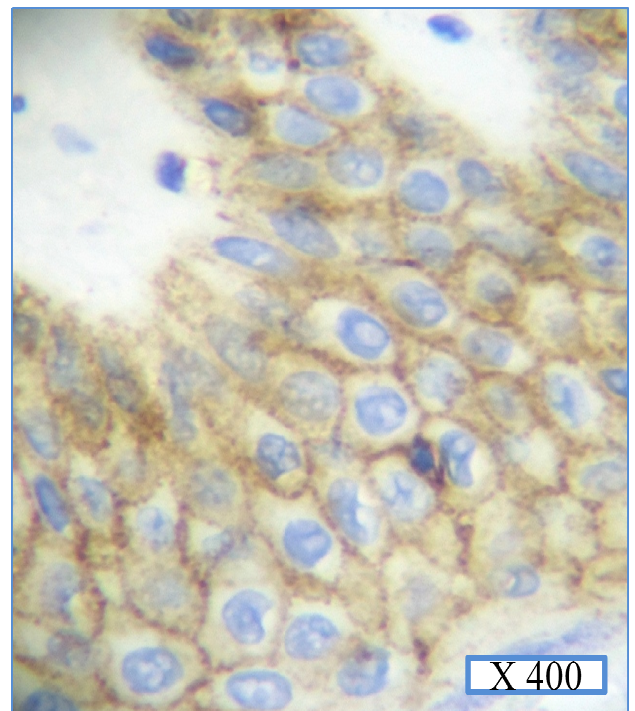
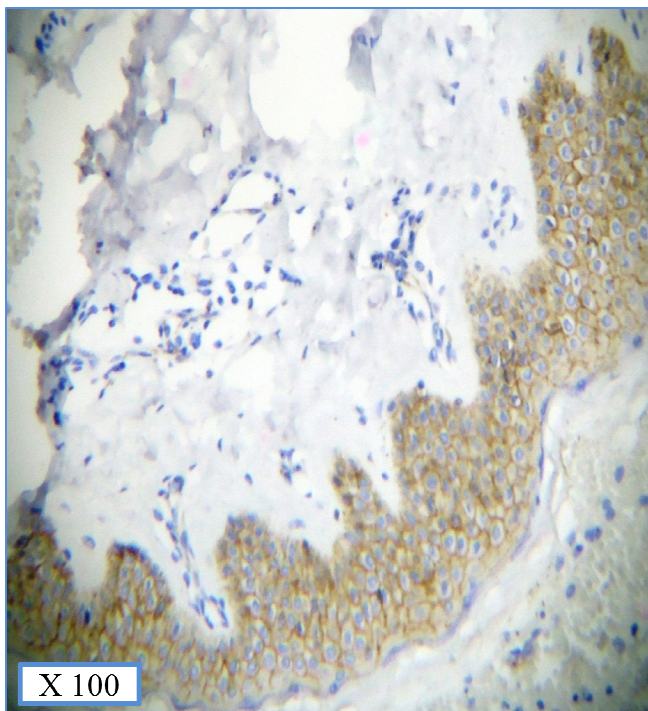
1- Expression de la b-caténine en corrélation avec les grades histologiques

L'IHC a été réalisé sur 8 cas de CHC (manque de matériel biologique) et parmi ces 8 cas,

5 cas (62,5%) ont présenté une positivité à la b-caténine

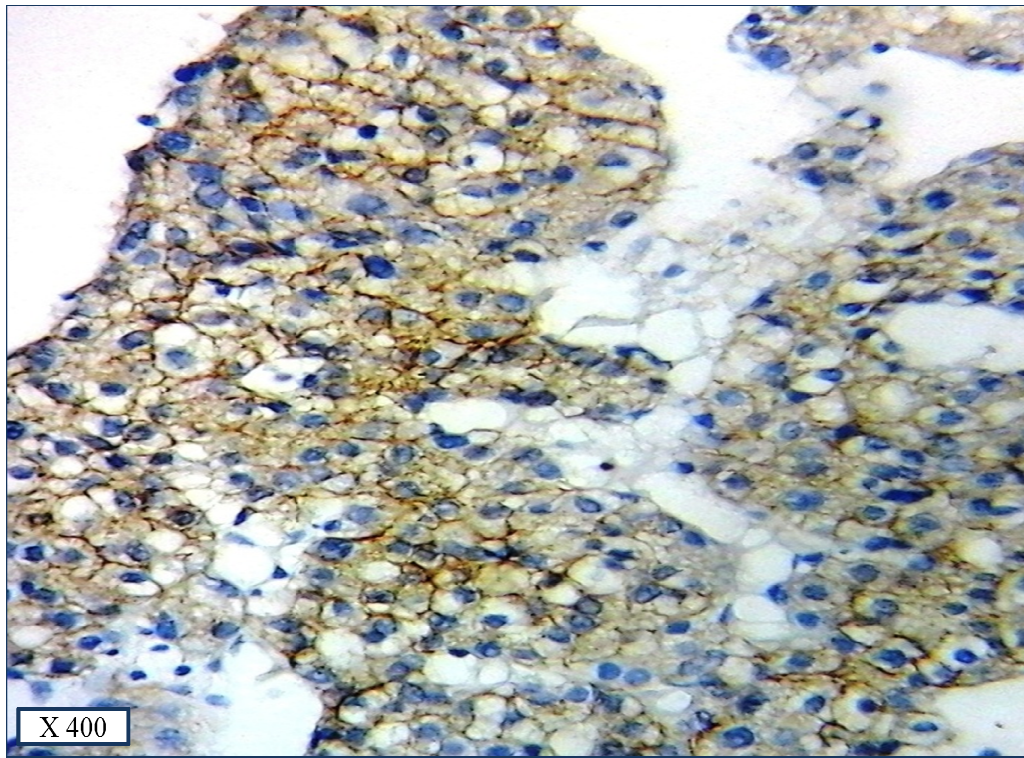
N°	Témoin	b-caténine	Localisation	Grade
1	(+) membranaire	+	cytoplasmique	Grade III
2		+	Nucléaire Cytoplasmique	Grade IV
3		+	Cytoplasmique Renforcement membranaire	Grade II
4		+	Membranaire	Grade II (CHC fibrolamellaire)
5		+	Membranaire cytoplasmique	Grade II (CHC à cellules claires)
6		-	/	Grade II
7		-	/	Grade II
8		-	/	Grade II

**Tableau 11** : Expression de la bêta-caténine

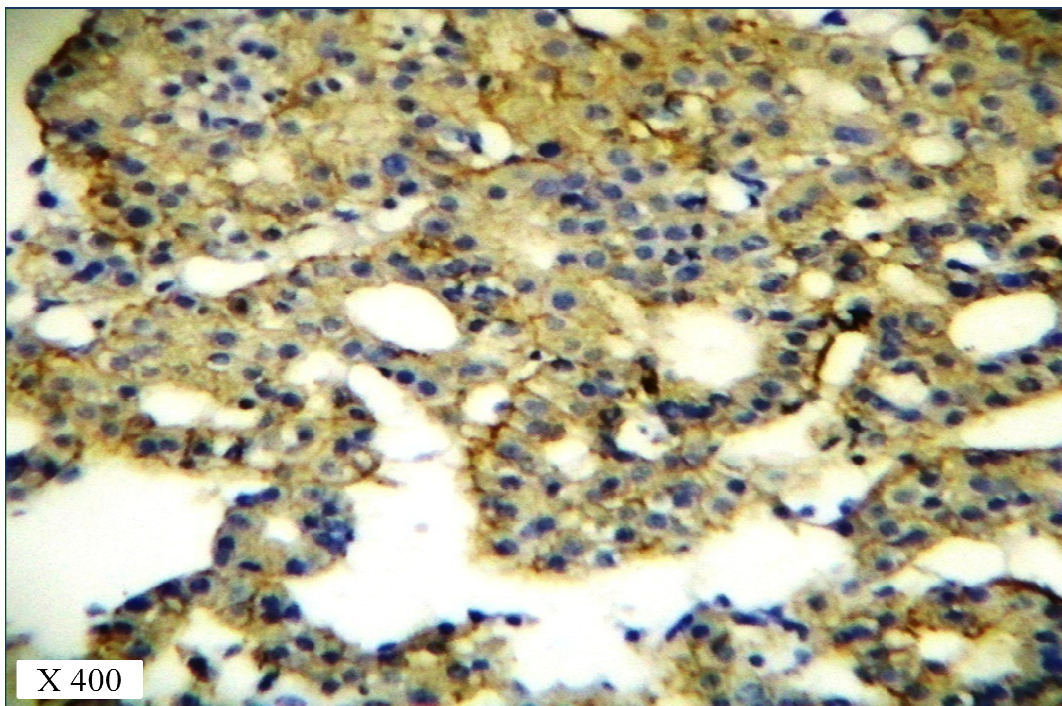


**Figure 25** : Expression membranaire de la b-caténine par un revêtement malpighien (témoin) (IHCX100) (IHC X400)



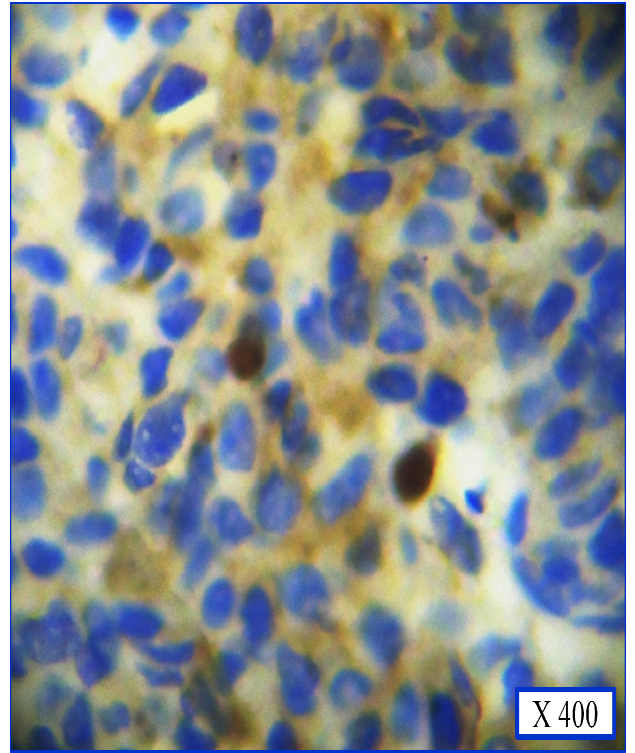
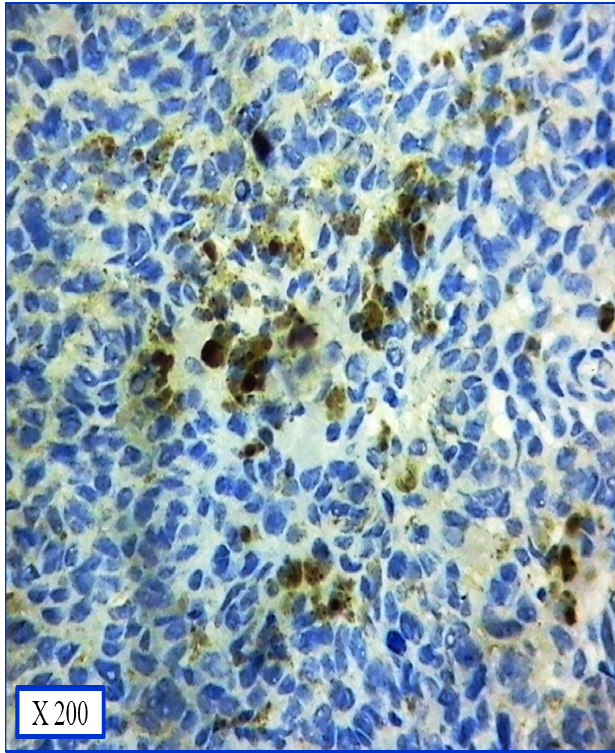


**Figure 26** : CHC grade II (Edmonson et Steiner). IHC à la b-caténine-marquage intense, membranaire et cytoplasmique >80 % des cellules tumorales (IHC X400 )

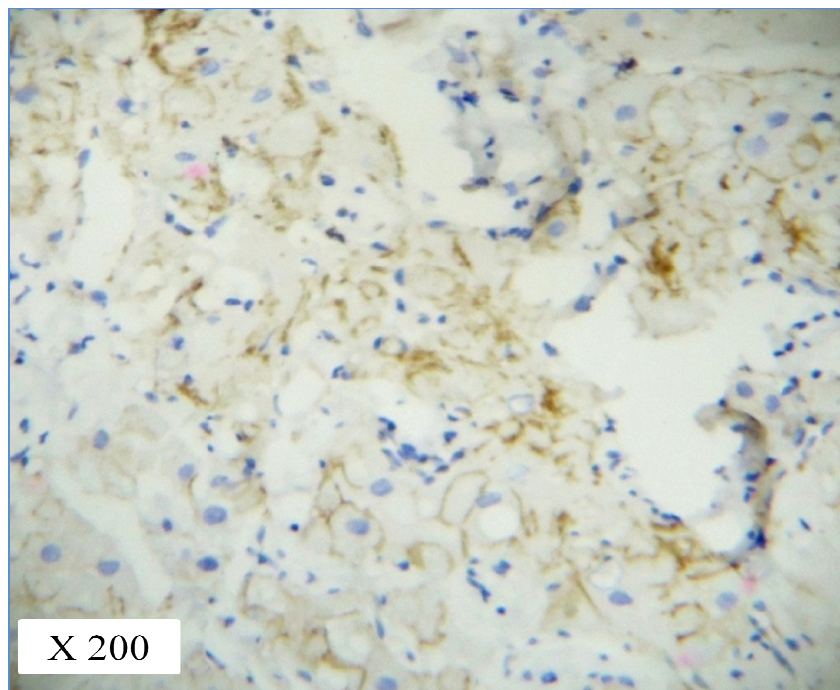


**Figure 27** : CHC grade III (Edmonson et Steiner). IHC à la b-caténine-marquage intense, membranaire et cytoplasmique >80 % des cellules tumorales (IHC X400 )

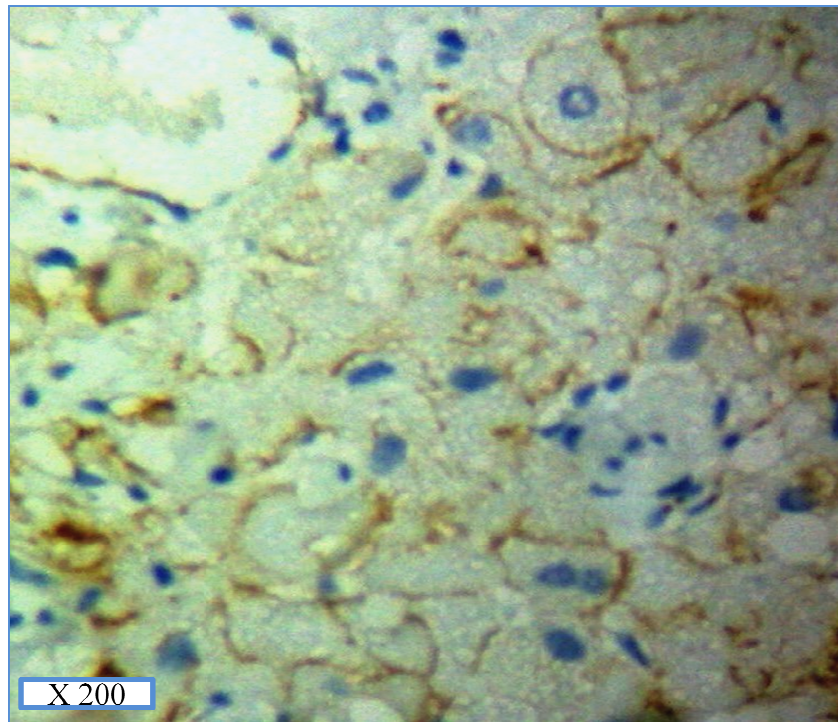




**Figure 28** : CHC de grade IV (Edmonson et Steiner) .IHC : marquage nucléaire intense (<5% des cellules tumorales) et cytoplasmique (<10% des cellules tumorales) par la b-caténine.(IHC X200) (IHC X400)



**Figure 29** : CHC de grade II (à cellules claires) marqué par la b-caténine ,marquage modéré et focale (IHC X200 )



**Figure 30** : CHC de grade II (fibrolamellaire) marqué par la b-caténine (IHC X200)

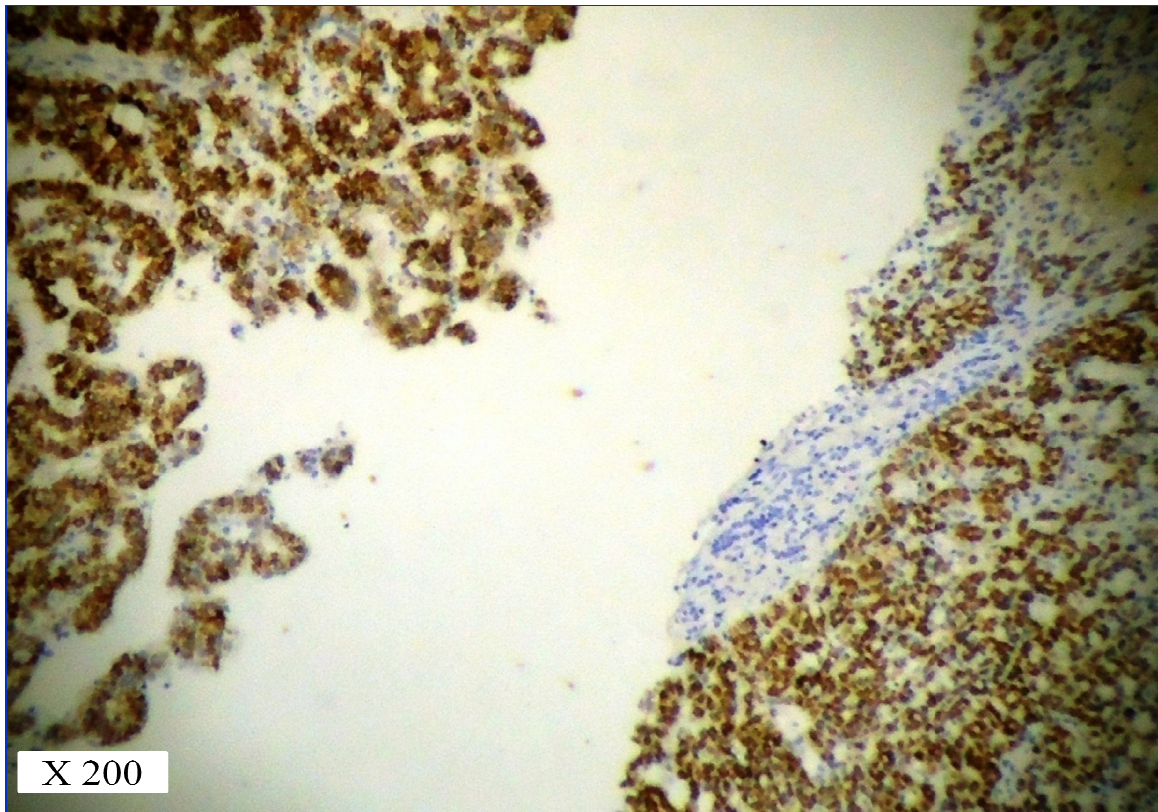
## 2- Expression de l'antigène hépatocytaire

L'Ag hépatocytaire a été exprimé dans tous les cas, mais le pourcentage des cellules positives est variable selon le grade.

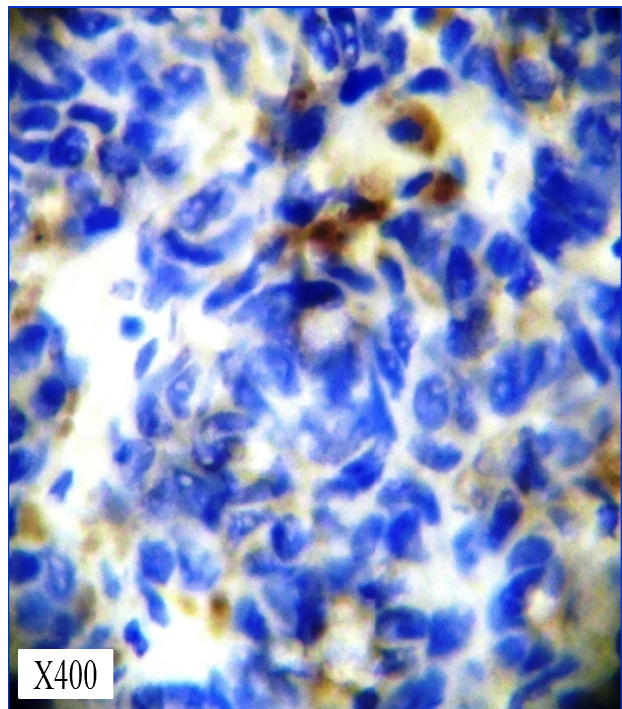
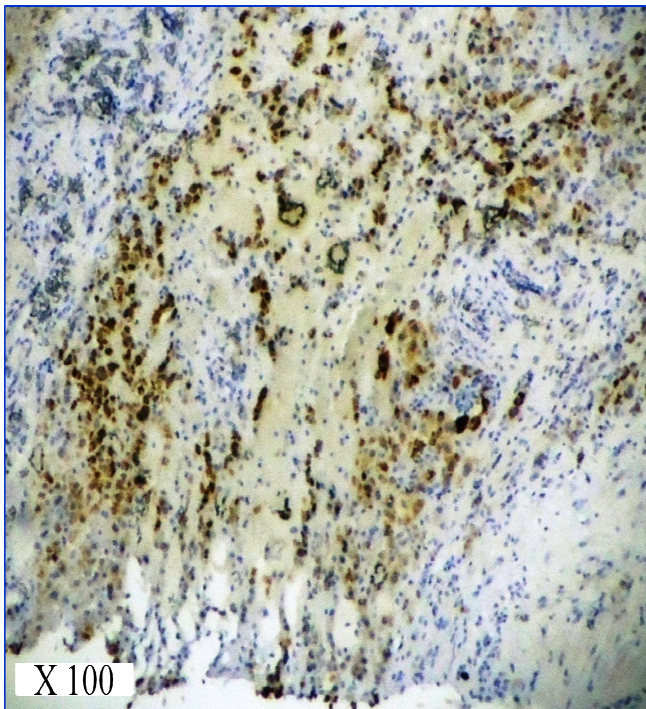
N°	Témoin	Expression de l'Ag hépatocytaire	Grade
1	(+) cytoplasmique granulaire	++	Grade III
2		+ focale	Grade IV
3		+ ++	Grade II
4		+ ++	Grade II (CHC fibrolamellaire)
5		+ ++	Grade II (CHC à cellules claires)
6		+ ++	Grade II

**Tableau 12**: Expression de l'Ag hépatocytaire



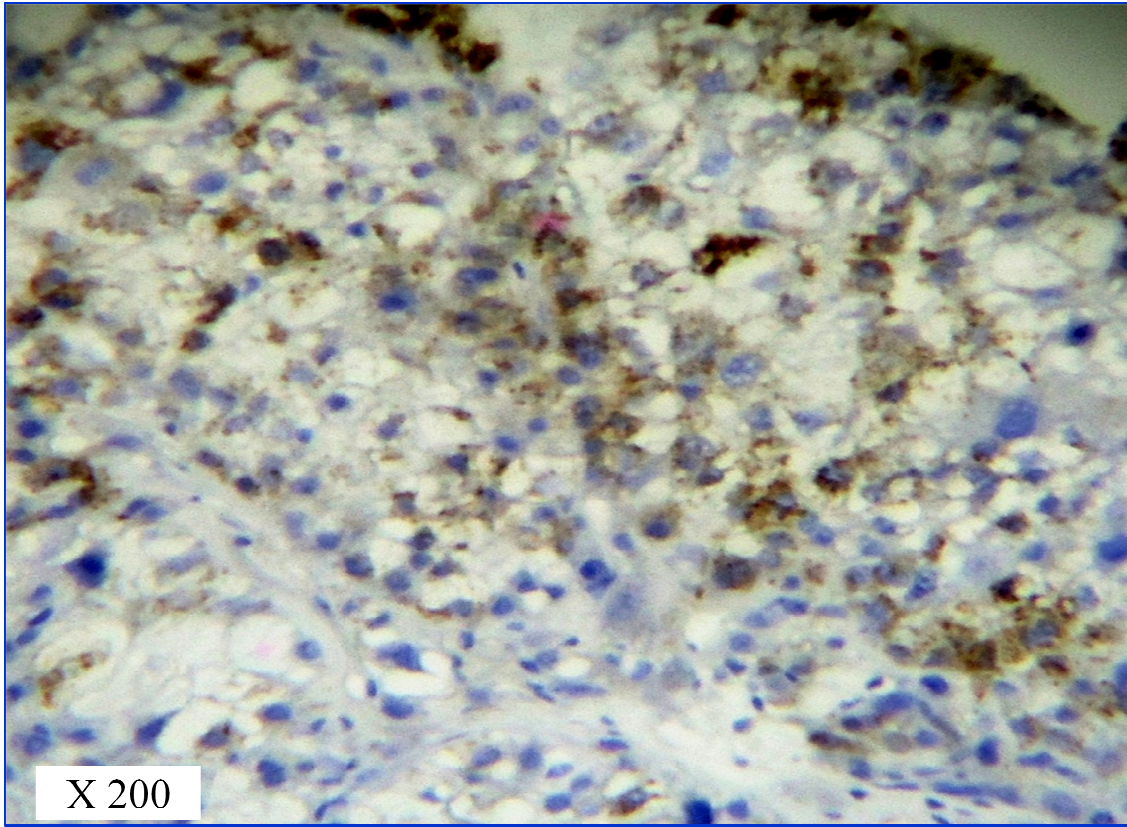


**Figure 31** : CHC grade II (Edmonson et Steiner)- Marquage cytoplasmique diffus par l'Ag hépatocytaire. Parenchyme hépatique non tumoral à droite. (IHC X200)



**Figure 32** : CHC grade IV (Edmonson et Steiner). IHC à Ag hépatocytaire : positivité cytoplasmique focale.(IHC X100)(IHC X400)





**Figure 33** : CHC à cellules claires marqué par l'Ag hépatocytaire (IHC X200)

## Discussion

Dans ce travail, nous étudions à travers une analyse rétrospective de 35 fiches de patients atteints de CHC la relation entre les différents grades histologiques du CHC et la localisation de la bêta-caténine.

### 1- Sexe

- Dans notre série une presque égalité entre hommes et femmes est notée avec une légère prédominance masculine ( sexe-ratio M/F = 1,2) ceci avoisine les résultats de l'étude rétrospective de Chouaib et son équipe en Tunisie (entre 1996 à septembre 2008) sur 58 cas de CHC ou ils ont trouvé aussi une prédominance masculine avec un sexe-ratio M/F de 1,9.
- Dans une étude réalisée sur 31 cas en côte d'Ivoire (CHU de Yopougon-Abidjan) entre 1991 et 1996 (**N'Gbesso et al.,1998**) le sexe-ratio était de 2,8 ce qui est un peu élevé par rapport à notre résultat.
- Dans les zones de haute prévalence, le sexe-ratio est plus élevé ; Koudougou dans son étude rétrospective entre 2009 et 2012 en France (CHU de Nantes) avait trouvé une prédominance masculine nette (avec un sexe-ratio M/F autour de 7,3) (**Koudougou,2013**).
- Ces chiffres élevés de sexe-ratio pourraient être due à une fréquence plus élevée d'hépatopathies chroniques chez l'homme (hépatites virales, tabagisme, alcoolisme..), dans certaines études sur le plan hormonal les oestrogènes endogènes chez la femmes auraient un effet protecteur (**Clavière et al.,1998**).

### 2- Age

- Dans notre série l'âge est compris entre 29 et 84 ans avec une moyenne de 62,4 ans et un pic de fréquence entre 70 et 80 ans ( 34% des cas), ces chiffres sont comparables à ceux rapportés dans la littérature.
- Dans la série de Marion-Audibert et son équipe ( entre 1996 et 2007) en France, la moyenne d'âge était de 60,1 ans. (**Marion-Audibert et al.,2009**)
- En Tunisie entre (1996 à septembre 2008) sur une série 58 cas (24-84 ans) de CHC ,Chouaib et son équipe avaient trouvé une moyenne d'âge de 63 ans ( **Chouaib et al.,2009**).
- Dans la série de Koudougou ( France) la moyenne d'âge était de 65 ans (**Koudougou,2013**).
- Et en côte d'Ivoire au CHU de Yopougon-Abidjan , la moyenne d'âge était de 47,4 ans (**N'Gbesso et al.,1998**).

### 3- Hépatopathies associées

- D'après les résultats de Chouaib et son équipe , le CHC est affection grave qui survient sur une hépatopathie chronique le plus souvent au stade de cirrhose. L'étiologie virale est Prédominante ( **Chouaib et al.,2009**).
- dans notre série le CHC représente 2,28 % de la pathologie hépatique, il est rare et survient fréquemment sur une hépatopathie chronique préexistante, 8 cas de CHC sont associés à une hépatite virale (4 cas VHB,4 cas VHC) représentant ainsi 22,85 % et 21 cas de foie cirrhotique soit 60 % , ce chiffre se rapproche de celui rapporté dans la littérature (80 % à 90 % ).

### 4- Grades histologiques ( classification d'Edmonson et Steiner)

Dans notre série le grade II était majoritaire, il représente 74 % de l'ensemble des CHC, le grade III qui représente 17% , puis le grade IV de 9%.

### 5- Variantes histologiques

**CHC fibrolamellaire** : Le CHC fibrolamellaire est une tumeur rare et ne représente que 1 à 2 % des hépatocarcinomes. Elle survient le plus souvent chez le sujet jeune sur un foie non cirrhotique. Bien différenciée, Son évolution est lente et son pronostic est favorable (**Sefiani et al.,1999**). Ce chiffre se rapproche du notre 2,85 % représentant 1 seul cas chez une patiente âgée de 32 ans.

**CHC à cellules claires** : 2 cas de CHC à cellules claires (5,71%) ont été rapporté dans notre série.

### 6- Expression de l'Ag hépatocytaire

Le degré d'expression de l'Ag hépatocytaire est corrélé aux grades de différenciation, elle est diffuse dans les formes bien et moyennement différenciées du CHC, dans le grade IV (peu différencié ) l'expression est minime et focale. Ceci s'explique par la perte des Ag de différenciation de la lignée hépatocytaire au cours de la progression tumorale (accumulation de mutations).

### 7- Expression de la bêta-caténine

Il est maintenant admis qu'une activation du signal bêta-caténine, mise en évidence par son accumulation cytosolique et/ou nucléaire concerne 30 à 40 % des CHC chez l'homme ce qui constitue une avancée majeure dans la compréhension de la physiopathologie de cette maladie (**Buendia,2000**). Dans notre série, sur 8 cas de CHC , 5 ont été marqués par la  $\beta$ -caténine (62,5%) dont 3 cas de CHC bien différencié de grade II présentant un marquage membranaire et cytoplasmique ; 1 cas de CHC moyennement différencié de grade III présentant un marquage cytoplasmique ; et 1 cas de CHC peu différencié de grade IV présentant un marquage cytoplasmique et nucléaire. Dans certaines études, une expression anormale de la  $\beta$ -caténine (faible pourcentage de cellules positives ou localisation nucléaire et/ou cytoplasmique) a été associée à des

caractéristiques clinicopathologiques telles qu'un haut degré histologique de malignité (grade IV) et des métastases ( **Krishnadath et al., 1997 ; Mialhe et al.,1997 ; Nakanishi et al., 1997**).

Le groupe de J. Zucman-Rossi a pu montrer que la voie bêta-caténine, quand elle est activée par une mutation du gène codant la  $\beta$ -caténine, définissait une voie de cancérogenèse particulière survenant en dehors d'un contexte d'hépatite virale B et surtout associée à peu d'instabilités chromosomiques (**Laurent-Puing et al.,2001**).

Ces mutations ont été décrites pour la première fois en 1998 dans le CHC, elles induisent une accumulation cytoplasmique et nucléaire de la b-caténine ce qui provoque une dérégulation de la transcription de nombreux gènes impliqués dans la machinerie cellulaire hépatocytaire (**Guéguen et Le Maréchal,2012**).

# *CONCLUSION*



## Conclusion

En conclusion, le carcinome hépatocellulaire est une tumeur peu fréquente, de pronostic péjoratif dû probablement au diagnostic tardif de la tumeur.

Dans les pays industrialisés, l'incidence du CHC pourrait être réduite par la généralisation du dépistage du CHC et l'amélioration des traitements curatifs, ainsi que la lutte contre les facteurs étiologiques de cirrhose (alcool et VHC principalement). Dans les pays de forte endémie, les programmes de vaccination contre le VHB, ainsi que ceux destinés à supprimer la contamination alimentaire par l'AFB1 pourraient diminuer son incidence également.

Au plan fondamental, l'amélioration des connaissances concernant la carcinogenèse hépatique devrait déboucher sur l'identification de nouveaux marqueurs tissulaires ou sanguins utilisables pour le dépistage ou le diagnostic du CHC. Elle devrait aussi entraîner le développement de nouvelles thérapeutiques ciblées sur les différentes étapes de développement du cancer.

L'objectif de notre travail a été atteint d'une part pour la corrélation de la localisation de la bêta-caténine avec le grade histologique du CHC et d'autre part pour la maîtrise de la technique d'immunohistochimie.

Notre étude de 35 cas a montré des résultats assez similaires aux études rapportées dans la littérature néanmoins la complexité de cette voie, la variation des sites d'altération génétique ainsi que l'interaction avec les régulateurs négatifs qui peuvent être eux-mêmes altérés rend les recherches plus laborieuses et plus complexes pour aboutir à des cibles thérapeutiques.

# *Références bibliographiques*

- **Abdel waheb A.A, 2004** -Caractérisation ultrasonore multimétrique du foie humain : Correlation microscopique.Mémoire Doctorat.Univ Parix XII-Val de Marne, 186p.
- **Anson M, Crain-Denoyelle AM, Baud V, Chereau F, Gougelet A, Terris B, Yamagoe S, Colnot S, Viguier M, Perret C, Couty JP.,2012** - Oncogenic  $\beta$ -catenin triggers an inflammatory response that determines the aggressiveness of hepatocellular carcinoma in mice. J Clin Invest 122(2) 586-99.
- **Bressac B, Kew M,Wands J, Ozturk M.,1991** - Selective G to T mutations of p53 gene in hepatocellular carcinoma from southern Africa. *Nature* 350:429-31.
- **Buendia MA.,2000** - Genetics of hepatocellular carcinoma. *Semin Cancer Biol*; 10 : 185-200.
- **Cadigan KM, Nusse R., 1997** -Wnt signaling : a common theme in animal development.*GenesDev* ; 11 : 3286-305.
- **Castaing D., Veilhan L.-A.,2008** - Anatomie du foie et des voies biliaires. EMC Ed. Elsevier Masson, Paris.
- **Chen H-F, Chen P, Li C-Y., 2010** -Risk of malignantneoplasms of liver and biliary tract in diabetic patients withdifferentage and sex stratifications. *Hepatology* 2010;52:155–63.
- **Chouaïb S., Abbes L., Azaiz O.,Nouira K.,Maamouri N.,Ben Hriz F.,Ouerghi H.,Belkahla N.,Chaabouni H.,Mnif E.,Ben Mami N.,2009-** Carcinome hépato-cellulaire : à propos d’une série de 58 cas, Tunisie,*GASTROENTEROL CLIN BIOL*, 33 A75.
- **Clavière C .,Bronowicki J-P.,Hudziak H.,Bigard M-A .,Gauchier P.,1998** – Rôles des stréroïdes sexuels et de leurs récepteurs dans la physiopathologie du carcinome hépatocellulaire.*Gastroenterol Clin Biol*, 22, 73-86.
- **Colli A., Fraquelli M., Casazza G., Massironi S., ColucciA., Conte D .,2006** - Accuracy of ultrasonography, spiral CT, magnetic resonance, and alpha-fetoprotein in diagnosing hepatocellular carcinoma: a systematic review. *Am J Gastroenterol* ; 101:513-23.

- **De la Coste A.,1998** .m/s n° 8-9, vol. 14
- **Dilou N.,Patouillard B.,Audigier J-C., 2004** - Les classifications de prédiction de survie du carcinome hépatocellulaire, *Gastroenterol Clin Biol* 28:359-366.
- **Dos Santos A.,2006** - Apport de la microdissection laser dans l'étude du protéome du carcinome hépatocellulaire développé sur cirrhose liée à l'infection par le virus de l'hépatite C. Ecole pratique des hautes études : sciences de la Vie et de la Terre.Centre Hépatobiliaire de l'hôpital Paul Brousse-Villejuif.
- **El Serag HB,Rudolph KL.,2007-** Hepatocellular carcinoma : epidemiology and molecular carcinogenesis.*Gastroenterology* ;132:2557-76.
- **Encha-Razavi F., Escudier E.,2008** - Embryologie humaine : de la molécule à la clinique,. Elsevier Masson, 4e édition.
- **Fartoux L., Desbois-Mouthon C., Rosmorduc O.,2009** - Carcinome hépatocellulaire : épidémiologie,physiopathologie et diagnostic. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Hépatologie, 7-038-A-18.
- **Foti M., 2012** - Obésité, hépatopathies stéatosiques non alcooliques et carcinome hépatocellulaire: mécanismes moléculaires. *Forum Med Suisse* 12(43):838–840.
- **Guéguen P., Le Maréchal C.,2012** -Profil moléculaire des tumeurs hépatobiliaires : vers de nouvelles pistes,facteurs prédictifs et cibles thérapeutiques. *Oncologie Springer* 14 :186.
- **Hussain SP, Schwank J, Staib F,WangXW, Harris CC., 2007-** TP53 mutations and hepatocellular carcinoma: insights into the etiology and pathogenesis of liver cancer. *Oncogene* 26:2166-76.
- **Kierszenbaum A.-L.,2002** - Histologie et biologie cellulaire :une introduction à l'anatomie pathologique. Traduction de la 1<sup>ère</sup> édition américaine par Validire P.et Validire-Charpy P. 638p.
- **Kirk GD, Lesi OA, Mendy M, Szymanska K, Whittle H, Goedert JJ,2005** - 249(ser) TP53 mutation in plasma DNA, hepatitis B viral infection,and risk of hepatocellular carcinoma. *Oncogene* 24:5858-67.
- **Khan AN., MacDonald S., Pankhania A., Sherlock D.,2009** - Liver, métastases.Emedicine. Edité par Elsevier Masson.

- **Koudougou C.,2013** - Prise en charge du carcinome hépatocellulaire au CHU de Nantes : Etude retrospective de 163 patients de novembre 2009 à juin 2012 .Faculté de médecine, université de Nantes. France.67 p
  
- **Krishnadath KK, Tilanus HW, Van Blankenstein M, Hop WCJ, Kremers ED, Dinjens WNM, Bosman FT.,1997-** Reduced expression of the cadherin-catenin complex in œsophageal adenocarcinoma correlates with poor prognosis. J Pathol 182(3):331-8
  
- **Larue L., Kumasa M., Goding CR.,2003** -Beta-Catenin in the melanocytelineage. Pigment Cell Research 16, 312-317
  
- **Laurent-Puig P., Legoix P., Bluteau O., Belghiti J., Franco D., Binot F., 2001-** Genetic alterations associated with hepatocellular carcinomas define distinct pathways of hepatocarcinogenesis. Gastroenterology ;120:1763-73.
  
- **Lauwers G Y. Terris B, Balis UJ, Batts K P, Regimbeau JM, Chang Y,2002** - Prognostic histologic indicators of curative lyresected hepatocellular carcinomas: a multi-institutional analysis of 425 patients with definition of a histologic prognostic index. Am J SurgPathol 26: 25-34
  
- **Legoix P, Bluteau O, Bayer J, Perret C, Balabaud C, Belghiti J,1999** -.Beta-catenin mutations in hepatocellular carcinoma correlate with a low rate of loss of heterozygosity. Oncogene 18:4044-6.
  
- **Lunn RM, Zhang YJ, Wang LY, Chen CJ, Lee PH, Lee CS, 1997** - p53 mutations, chronic hepatitis B virus infection, and aflatoxin exposure in hepatocellular carcinoma in Taiwan. Cancer Res **57**:3471-7.
  
- **Marion-Audibert A.M.,Morineaux E.,Merle P., Bancel B., Radenne S., Ducerf C., Souquet J.C. ,Zoulim F.,2009-** Caractéristiques cliniques et histologiques,traitement et survie de 40 patients atteints de carcinome hépatocellulaire en l'absence de cirrhose, France,Rev,Gastroentérol clin biol,33 A 74.Edité par Elsevier Masson.
  
- **Merle P, de la Monte S, Kim M, Herrmann M, Tanaka S, Von DemBussche A, 2004** -Functional consequences of frizzled-7 receptor overexpression in human hepatocellularcarcinoma. Gastroenterology **127**:1110-22.

- **Mialhe A, Louis J, Montlevier S, Peoch M, Pasquier D, Bosson J-L, Rambeaud J-J, Seigneurin D, 1997** -Expression of E-cadherin and a-,b-,g-catenins in human bladder carcinomas: are they good prognostic factors? *Invasion Metastasis* 17(3):124-37
- **Nakanishi Y, Ochiai A, Akimoto S, Kato H, Watanabe H, Tachimori Y, Yamamoto S, Hirohashi S, 1997**-Expression of E-cadherin, a-catenin,  $\beta$ -catenin and plakoglobin in esophageal carcinomas and its prognostic significance. *Oncology* 54(2):158-65
- **N'Gbesso R.D., Attia A., Mahassadi A., Kanga N.,Yoman T.N.,Kéita A.K.,Manlan K.L.,1998**- Carcinomes hépatocellulaires observés à Abidjan : aspects et place de l'échographie,Côte d'Ivoire.*Radiol* , 79 : 409-414
- **Nibaldo C.I.,Varela-Nallar L .,2013**- Wnt Signaling Roles on the Structure and Function of the Central Synapses: Involvement in Alzheimer's Disease ;10.5772/54606
- **Pang R, Yuen J, Yuen MF, Lai CL, Lee TK, Man K, 2004** - PIN1overexpression and beta-catenin gene mutations are distinct oncogenic events in human hepatocellular carcinoma. *Oncogene* 23:4182-6.
- **Rosenbaum J., Mavier P.,Dhumeaux D.,1991**- Interactions cellulaires dans le foie. *médecine/sciences* 7 : 110-7.
- **Reynès M.,2002** -Pathologie tumorale du foie, Le pathologiste. Edité par Elsevier.p228.
- **Satoh S, Daigo Y, Furukawa Y, Kato T, Miwa N, Nishiwaki T, 2000** -AXIN1 mutations in hepatocellular carcinomas, and growth suppression in cancer cells by virus-mediated transfer of AXIN1. *Nat Genet* 24:245-50.
- **Schlageter M, Terracciano LM, D'Angelo S, Sorrentino P, 2014** - Histopathology of hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2014; 20(43): 15955-15964.
- **Sefiani S., Mahassini N.,Cherradi N., Bernoussi Z., Benkiran L.,Zouaidia F., Laraki L., Jelthi A., Mansouri F., Elhachimi A.,1999**- Le carcinome hépatocellulaire aspects anatomo-pathologiques à propos de 108 cas. *Médecine du Maghreb* n°78.

- **Seigne AL.,2013**-Etude des facteurs pronostiques de survie dans le carcinome hépatocellulaire traité par Sorafenib :Impact de la surface de graisse viscérale.Thèse de doctorat .Univ de Lorraine-France, 99p.
- **Taniguchi K, Roberts LR, Aderca IN, Dong X, Qian C, Murphy LM, 2002** - Mutational spectrum of beta-catenin, AXIN1, and AXIN2 in hepatocellular carcinomas and hepatoblastomas. *Oncogene* **21**:4863-71.
- **Tannapfel A, Busse C,Weinans L, Benicke M, Katalinic A, Geissler F, 2001**- INK4a-ARF alterations and p53 mutations in hepatocellularcarcinomas. *Oncogene* **20**:7104-9.
- **Trinchet J.C.,2009** - Epidémiologie et prise en charge du carcinome hépatocellulaire. *Gastroentérologie Clinique et Biologique* **33**, 830- 839.
- **YauTO, ChanCY, Chan KL, LeeMF,WongCM,Fan ST, 2005**- HDPR1,anovel inhibitor of the Wnt/beta-catenin signaling, is frequently down regulated in hepatocellular carcinoma: involvement of methylation-mediated gene silencing. *Oncogene* **24**:1607-14

# *Annexes*



## ANNEXE 1

Stade de la tumeur	
T1	Nodule unique < 2 cm, pas d'invasion vasculaire
T2	
a	Unique < 2 cm avec invasion vasculaire
b	Multiples nodules unilobulaires < 2 cm sans invasion vasculaire
c	Unique > 2 cm sans invasion vasculaire
T3	
a	Unique > 2 cm avec invasion vasculaire
b	Multiples unilobulaires < 2 cm avec invasion vasculaire
c	Multiples unilobulaires > 2 cm sans ou avec invasion vasculaire
T4	
a	Multiples nodules bilobulaires
b	Invasion vasculaire d'un gros vaisseau (porte ou hépatique)
c	Invasion d'un organe adjacent
Stade I	T1N0M0
Stade II	T2N0M0
Stade III	T1, T2 ou T3 N+M0
Stade IV	T4 ou M+

**Tableau 1** : Classification TNM ( **Dilou et al., 2004**)

## ANNEXE 2

### *Traitement à visée curative*

Transplantation

Résection

Destruction percutanée

Chimique (injection d'alcool absolu, d'acide acétique, etc.)

Thermique (radiofréquence, micro-ondes, etc.)

### *Traitement palliatif*

Voie intra-artérielle

Chimiothérapie

Chimio-embolisation<sup>a</sup>

Embolisation

Alcoolisation

Lipiodol radioactif

Microsphères d'Yttrium-90 radioactif

### *Traitement médical<sup>b</sup>*

Tamoxifène

Antiandrogènes

Interféron alpha

Octréotide

Mégestrol

Pravastatine

Séocalcitol

Sorafénib<sup>a</sup>

---

<sup>a</sup> Méthodes ayant montré un bénéfice de survie significatif dans au moins un essai randomisé de grande ampleur et/ ou de méthodologie satisfaisante versus traitement symptomatique.

<sup>b</sup> Hors chimiothérapie classique.

**Tableau 2** : Principales méthodes thérapeutiques proposées en cas de CHC (Trinchet, 2009)

### ANNEXE 3

cas	N°	Age	Sexe	Diagnostic histologique
1	1049/11	72	F	CHC de grade III
2	1641/11	67	F	CHC de grade II
3	2238/11	55	F	CHC de grade IV
4	4864/11	63	H	CHC de grade II
5	7565/11	62	H	CHC de grade II
6	8451/11	62	F	CHC de grade II
7	9040/11	65	F	CHC de grade II
8	10998/11	73	F	CHC de grade II
9	11151/11	29	H	CHC de grade II
10	11882/11	53	H	CHC de grade II
11	12158/11	62	F	CHC de grade II
12	2131/12	57	F	CHC de grade II
13	6884/12	70	H	CHC de grade II
14	11009/12	84	H	CHC de grade II
15	11254/12	76	F	CHC de grade II
16	11319/12	72	H	CHC de grade II
17	11609/12	68	H	CHC de grade IV
18	13561/12	51	H	CHC de grade II
19	14011/12	78	H	CHC de grade II
20	14069/12	37	F	CHC de grade III
21	14428/12	50	F	CHC de grade III
22	1706/13	75	H	CHC de grade II
23	1447/13	81	H	CHC de grade II
24	4461/13	70	F	CHC de grade II
25	5983/13	73	H	CHC de grade IV
26	6536/13	52	H	CHC de grade II
27	6537/13	75	H	CHC de grade II
28	6653/13	58	F	CHC de grade II
29	7690/13	75	H	CHC de grade III
30	8808/13	49	H	CHC de grade II
31	9155/13	60	F	CHC de grade III
32	10022/13	63	F	CHC de grade II
33	12955/13	72	H	CHC de grade III
34	11558/14	44	H	CHC de grade II
35	12661/14	32	F	CHC de grade II (Fibrolamellaire)