

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

Université BLIDA 1  
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 de Master*

*Option : Biosignalisation Moléculaire et Cellulaire, Génétique du Cancer*

*Thème*

***ETUDE DU CANCER PRIMITIF DU FOIE ET  
RECHERCHE DE L'INTERET DE CERTAINES  
MOLECULES DANS SON DIAGNOSTIC***

*Présenté par :*

*M<sup>lle</sup> SAIDOUNE Hayet*

*Soutenu le 08.10.2017*

*Devant le jury composé de :*

*Mme CHAKHMA A.      Maitre Assistante A      UB1      Présidente*

*Mme ZEROUTI K,      Maitre Assistante A      UB1      Examinatrice*

*Dr. SAADI L.      Maitre de Conférences A.      UB1      Promotrice*

*Dr. TAKABAITH.      Résidente      CHU Mostapah Alger      CO-Promotrice*

*Promotion : 2016-2017*

# *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail à :*

*A mes chers parents qui sont toujours dans mon cœur qui ont consacré leur vie pour mon éducation et ma réussite, qui m'ont donné du courage dans les moments les plus difficiles.*

*Que dieu les garde et les protège pour nous.*

*A tous mes maîtres, qui m'ont partagé leur savoir et m'ont encouragé de puis mon jeune âge  
Jusqu'aujourd'hui. Je serais toujours à la hauteur de votre confiance.*

*A mes chers frères Amine, Abd Hamide et ma très chère sœur Samia.*

*A toute ma famille : mes chères grands-parents, mes oncles, mes tantes, mes cousines, mes voisines  
et surtout ma cousine Naima, merci pour l'encouragement et le soutien.*

*A mes amis, Aicha Meriem Lina, Imene pour tous nos moments passés ensemble*

*A tous ceux qui m'ont aidé et soutenu de près ou de loin, à tous les étudiants de ma section à qui je  
souhait un bon courage.*

# ***REMERCIEMENTS***

Tout mon gratitude à Dieu le tout puissant qui m'a ouvert les Pores du savoir et qui m'a donné la force et la volonté pour réaliser et terminer ce modeste travail.

Je remercie à ma promotrice et chef d'option Dr SAADI pour sa disponibilité à encadrer et diriger mon travail et pour sa compréhension, ses orientation instructives qui ont été à la base de la réalisation de ce projet et ce la malgré ses nombreuses occupations.

Je remercie à ma co-promotrice Dr TAKABAITE , qui m'a orientés tout au long de mon stage , et pour sa disponibilité et sa compréhension malgré ses nombreuses occupations, je souhaite de tout mon cœur que dieu le récompense pour tous ses efforts .

Je remercie le membre du jury Mme CHAKHMA A d' avoir accepté de présider ce modeste travail.

Je remercie le membre du jury Mme ZEROUTI A d avoir accepté d'examiner ce modeste travail.

Je remercie vivement Madame AOURAGE , pour son aide précieuse .

Je remercie toute les techniciennes du laboratoire d'anatomie –pathologique Mostapha surtout Madame Nessrine et l'archivise Monsieur saad

Je remercie ma famille qui m'a soutenus et encouragés pour poursuivre mes études sans oublier mes chère(e)s ami(e)s qui ont toujours été présents pour nous soutenir.

Merci à tous et à toutes.....

## RESUME

L'hépatocarcinome représente la tumeur hépatique primitive la plus fréquente. Cependant, les mécanismes détaillés du développement de cette maladie restent inconnus et détermine un modèle simple de hépatocarcinogenèse avec implication de la voie de signalisation Wnt qui s'est révélée difficile. Dans ce contexte, notre travail a pour but d'étudier ce type de cancer et de chercher la localisation est le taux d'expression de  $\beta$ -caténine, l'alpha foetoprotéine et de l'Ag hépatocytaire selon ses différents grades histologiques par la technique immunohistochimie. L'étude rétrospective clinique réalisée sur 35 patients atteints d'hépatocarcinome montre une prédominance masculine avec une fréquence maximale chez les personnes âgés (plus de 70 ans). Ce type de cancer est généralement associé au facteur étiologique viral dans plus de 57% des cas qui ont une origine virale B, suivie de celle du 23% des cas à l'origine de l'hépatite virale C. La répartition selon le grade histologique, montre que l'hépatocarcinome bien différencié est le plus fréquent (74,29%). Les résultats de l'immunomarcage montre que l'expression de la  $\beta$ -caténine est corrélée au degré de différenciation, car l'intensité membranaire est très importante dans les l'hépatocarcinome bien différencié et l'intensité cytoplasmique et nucléaire est très importante dans le haut grade. L'expression de l'Ag hépatocytaire est forte dans les formes bien différenciées et faible dans les formes peu différenciées, alors que l'expression d'Alpha foetoprotéine est faible dans les formes bien différenciées et forte dans les formes peu différenciées, Ces résultats nous laisse suggérer une éventuelle mutilation de la protéine  $\beta$ -caténine, l'Ag hépatocytaire et l'alpha foetoprotéine qui peut être utilisée dans le diagnostic et le développement de la thérapeutique, et dans le suivi des patients pour mieux adapter les moyennes thérapeutiques.

**Mots clés:** Hépatocarcinome, Grade histologique, Immuno-histochimique,  $\beta$ -caténine, Alpha foetoprotéine, Ag hépatocytaire.

## **Abstract**

Hepatocarcinoma is the most common primary hepatic tumor. However, the detailed mechanisms of development of this disease remain unknown and determines a simple model of hepatocarcinogenesis with implication of the signaling pathway Wnt which proved difficult. In this context, our work aims to study this type of cancer and to seek localization is the rate of expression of  $\beta$ -catenin, alpha fetoprotein and hepatocytic Ag according to its different histological grades by the technique immunohistochemistry. The clinical retrospective study carried out on 35 patients with hepatocarcinoma shows a male predominance with a maximum frequency in the aged (over 70 years). This type of cancer is generally associated with the viral etiologic factor in more than 57% of the cases that have a viral origin B, followed by that of the 23% of the cases causing viral hepatitis C. The distribution according to the histological grade , shows that the well-differentiated hepatocarcinoma is the most frequent (74.29%). The results of immunomarcation show that the expression of  $\beta$ -catenin is correlated with the degree of differentiation, as the membrane intensity is very important in the well-differentiated hepatocarcinoma and the cytoplasmic and nuclear intensity is very important in the ranking officer. The expression of hepatocytic Ag is strong in well-differentiated forms and weak in poorly differentiated forms, whereas expression of Alpha fetoprotein is low in well-differentiated and strong forms in poorly differentiated forms. suggests a possible mutilation of the  $\beta$ -catenin protein, hepatocytic Ag and alpha fetoproteins which can be used in the diagnosis and development of therapeutics and in the follow-up of patients to better adapt the therapeutic means.

**Key words:** Hepatocarcinoma, histological grade, Immunohistochemical,  $\beta$ -catenin, Alpha fetoprotein, Hepatocytic Ag.

## ملخص

سرطان الكبد هو الورم الكبدي الأولي الأكثر شيوعا. ومع ذلك، فإن آليات تفصيلية لتطوير هذا المرض غير معروفة ويحدد نموذج بسيط من تسرطن الكبد بمشاركة مسار الإشارات ونت التي أثبتت صعوبة. في هذا السياق، يهدف عملنا إلى دراسة هذا النوع من السرطان والسعي لتحديد مكان و معدل التعبير ب-كاتينين، ألفا فيتوبروتين، و مولد ضد الكبدي وفقا لدرجات النسيجية المختلفة من قبل تقنية التشخيص المناعي. الدراسة استعادية السريرية على 35 مريضا يعانون من سرطان الكبد أظهرت الذكور مع الحد الأقصى تردد في الناس غازات الدفيئة (أكثر من 70 سنة). عادة ما يرتبط هذا النوع ، تليها B 23٪ من السرطان مع عامل المسبب للمرض الفيروسي في أكثر من 57٪ من الحالات يكون لها أصل الفيروسي التوزيع وفقا لدرجة النسيجي ، ويظهر أن سرطان الكبد متباينة جيدا هو الأكثر C. من الحالات سبب التهاب الكبد الفيروسي شيوعا (74.29٪). نتائج التشخيص المناعي يدل على أن التعبير ب-كاتينين يرتبط مع درجة التمايز، لأن قوة غشاء مهمة جدا في سرطان الكبد جيد متباينة وكثافة حشوية والنوعية مهم جدا في عالية الجودة. التعبير عن ، و مولد ضد الكبدي في أشكال متباينة بشكل جيد وانخفاض في أشكال سوء متباينة، في حين أن التعبير عن ألفا فيتوبروتين منخفض في أشكال متباينة بشكل جيد وقوي في أشكال متباينة سيئة، وهذه النتائج وتشير هذه النتائج إلى تشويه ممكن من البروتين ب- كاتينين ، و مولد ضد الكبدي ، ألفا فيتوبروتينز والتي يمكن استخدامها في تشخيص وتطوير العلاجات ومتابعة المرضى لتحسين التكيف مع الوسائل العلاجية.

**الكلمات المفتاحية:** سرطان الكبد، الصف النسيجي، التشخيص المناعي، ب-كاتينين، ألفا فيتوبروتين، مولد ضد الكبدي

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableaux</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau 1</b>	Classification histologiques des CHC d'Edmondson et Steiner / OMS.	<b>08</b>
<b>Tableau 2</b>	Classification TNM.	<b>Annexe 1</b>
<b>Tableau 3</b>	Principales méthodes thérapeutiques proposées en cas de carcinome hépatocellulaire.	<b>Annexe 1</b>
<b>Tableau 4</b>	Représentative de l'ensemble des cas du CHC.	<b>Annexe 1</b>
<b>Tableau 5</b>	Nombre et pourcentage de CHC selon le sexe	<b>Annexe 2</b>
<b>Tableau 6</b>	Nombre et pourcentage des CHC selon tranche de l'âge et le sexe.	<b>Annexe 2</b>
<b>Tableau 7</b>	Moyenne d'âge, âge minimum et maximum au diagnostique	<b>Annexe 2</b>
<b>Tableau 8</b>	Répartition des CHC selon les facteurs étiologiques .	<b>Annexe 2</b>
<b>Tableau 9</b>	Répartition du carcinome hépatocellulaire selon le grade d'Edmonson et Steiner	<b>Annexe 2</b>
<b>Tableau 10</b>	Variantes histologiques du CHC	<b>32</b>
<b>Tableau 11</b>	Répartition la taille des nodules en fonction de grade histologique	<b>34</b>
<b>Tableau 12</b>	Taux et localisation d'expression de b-catenine en fonction du grade histologique	<b>35</b>
<b>Tableau 13</b>	Expression de Ag hépatocytaire et Alpha FP en fonction du grade histologique du carcinome hépatocytaire	<b>39</b>

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Figure 1</b>	Segmentation et vascularisation du foie chez L'Homme .	<b>02</b>
<b>Figure 2</b>	Structure d'un lobule hépatique.	<b>03</b>
<b>Figure 3</b>	Histologique d'un lobule hépatique .	<b>03</b>
<b>Figure 4</b>	Principaux types cellulaires dans le parenchyme hépatique .	<b>04</b>
<b>Figure 5</b>	Facteurs de risque du carcinome hépatocellulaire.	<b>06</b>
<b>Figure 6</b>	Aspects macroscopiques des CHC.	<b>07</b>
<b>Figure 7</b>	Aspects microscopiques des CHC.	<b>09</b>
<b>Figure 8</b>	Hépatocarcinogénèse.	<b>10</b>
<b>Figure 9</b>	schéma représentative de gène CTNNB1.	<b>12</b>
<b>Figure 10</b>	La structure de la protéine $\beta$ -caténine .	<b>12</b>
<b>Figure 11</b>	Multilocalisation et Multifonction de la $\beta$ -caténine	<b>13</b>
<b>Figure 12</b>	Représentation de la voie de signalisation Wnt/ $\beta$ -caténine	<b>14</b>
<b>Figure 13</b>	Voie $\beta$ -caténine et son activation aberrante dans les carcinomes hépatocellulaires.	<b>16</b>
<b>Figure 14</b>	Vue macroscopique d'un CHC.	<b>20</b>
<b>Figure 15</b>	Schéma de la technique immunohistochimique	<b>23</b>
<b>Figure 16</b>	Répartition des cas de carcinome hépatocellulaire selon le sexe	<b>26</b>
<b>Figure 17</b>	Répartition des cas de carcinome hépatocellulaire en fonction de tranche d'âge..	<b>27</b>
<b>Figure 18</b>	Résultats de la corrélation entre le sexe et la tranche d'âge des cas de carcinome hépatocellulaire.	<b>27</b>
<b>Figure 19</b>	Répartition des cas de carcinome hépatocellulaire selon les facteurs étiologiques.	<b>28</b>
<b>Figure 20</b>	Représentation des cas de carcinome hépatocellulaire selon le grade histologique	<b>29</b>
<b>Figure 21</b>	Structure d'un parenchyme hépatique bien différencié (témoin). Coloration HE ;Gr : x100(a) et x400 (b).	<b>30</b>
<b>Figure 22</b>	Structure d'un CHC bien différencié de grade I. Coloration HE ;Gr : x100(a) et x400 (b).	<b>30</b>
<b>Figure 23</b>	Structure d'un CHC bien différencié de grade II. Coloration HE ;Gr : x100(a) et x400 (b).	<b>31</b>
<b>Figure 24</b>	Structure d'un CHC moyennement différencié de grade III. Coloration HE ;Gr : x100(a) et x400 (b).	<b>31</b>
<b>Figure 25</b>	Structure d'un CHC peu différencié de grade Coloration HE ;Gr : x100(a) et	<b>32</b>



	x400 (b).	
<b>Figure 26</b>	Structure d'un carcinome hépatocellulaire fibrolamellaire. Coloration HE ; Gr : x 100.	<b>33</b>
<b>Figure 27</b>	Structure d'un carcinome hépatocellulaire à cellules claires. Coloration HE ; Gr : x 100.	<b>33</b>
<b>Figure 28</b>	Expression membranaire de la $\beta$ -caténine dans les cellules saines (témoin). Gr : x 400.	<b>36</b>
<b>Figure 29</b>	Immunomarquage cytoplasmique intense de la $\beta$ -caténine dans le CHC bien différencié. Gr : x 400.	<b>36</b>
<b>Figure 30</b>	Immunomarquage membranaire et cytoplasmique modéré de la $\beta$ -caténine dans le CHC grade III. Gr : x 400.	<b>37</b>
<b>Figure 31</b>	Immunomarquage nucléaire et cytoplasmique intense de la $\beta$ -caténine dans le CHC de grade IV. Gr : x 400.	<b>37</b>
<b>Figure 32</b>	Immunomarquage cytoplasmique et membranaire faible de la $\beta$ -caténine dans le CHC fibrolamellaire. Gr : x 100.	<b>38</b>
<b>Figure 33</b>	Immunomarquage cytoplasmique et membranaire faible de la $\beta$ -caténine dans le CHC à cellules claires. Gr : x 100.	<b>38</b>
<b>Figure 34</b>	Expression cytoplasmique diffuse d'AgH (témoin). Gr : x400.	<b>40</b>
<b>Figure 35</b>	Expression cytoplasmique focale d'AFP (témoin). Gr : x400.	<b>40</b>
<b>Figure 36</b>	Expression cytoplasmique diffuse d'AgH avec le grade I. Gr : x100.	<b>40</b>
<b>Figure 37</b>	Expression cytoplasmique focale d'AFP avec le grade I. Gr : x100.	<b>40</b>
<b>Figure 38</b>	Expression cytoplasmique diffuse d'AgH avec le grade II. Gr : x400.	<b>40</b>
<b>Figure 39</b>	Expression cytoplasmique focale d'AFP avec le grade II. Gr : x400	<b>40</b>
<b>Figure 40</b>	Expression cytoplasmique moyen d'AgH avec le grade III. Gr : x400.	<b>41</b>
<b>Figure 41</b>	Expression cytoplasmique moyen d'AFP avec le grade III. Gr : x400.	<b>41</b>
<b>Figure 42</b>	Expression cytoplasmique focale d'AgH avec le grade IV. Gr : x400.	<b>41</b>
<b>Figure 43</b>	Expression cytoplasmique diffuse d'AFP avec le grade IV. Gr : x400	<b>41</b>
<b>Figure 44</b>	Expression cytoplasmique diffuse d'AgH avec CHC Fibrolamellaire. Gr : x400	<b>41</b>
<b>Figure 45</b>	Expression cytoplasmique diffuse d'AFP avec CHC Fibrolamellaire. Gr : x400	<b>41</b>
<b>Figure 46</b>	Expression cytoplasmique diffuse d'AgH avec CHC à cellules claires. Gr : x100	<b>42</b>
<b>Figure 47</b>	Expression cytoplasmique diffuse d'AFP avec CHC à cellules claires. Gr : x100	<b>42</b>



## LISTE DES ABREVIATIONS

ACE :Antigène Carcinom-Embryonnaire

ADN : Acide Désoxyribonucléique

AFB1: Aflatoxine B1

AFP : Alpha foetoprotéine

AgH : Antigène hépatocytaire

ALD : Alcoholic liver disease / Maladie hépatique alcoolique

APC : Adenomatous Polyposis Coli

CHC : Carcinome Hépatocellulaire

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

DAB : Diaminobenzidine

Dvl : Dishvelled

Fz : Frizzled

GSK 3b : glycogen synthase kinase 3 b

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> : Hydroxide d'hydrogène

HBS : Hématoxyline binding site

HE : Hématoxyline Eosine

HM : Hématoxyline de Mayer

HRP: Horseradish peroxidase.

IHC : Immunohistochimie

IRM : Imagerie par Résonance Magnétique

LEF : lymphoid Enhancer Factor/ facteur de renforcement des lymphoïdes

LRP 5/6 : Protéine liée aux Récepteurs Lipoprotéines 5/6

NAFLD : Non Alcoholic Fatty Liver Disease

NASH :Stéato-Hépatite Non Alcoolique

PBS : Phosphate Buffered Saline

PBF : Ponction Biopsie du Foie

TCF : T-Cell Factor

TDM : Tomodensitométrie

TNM: Tumeur-Nodule-Métastasis

VHB : Virus de l'hépatite B

VHC : Virus de l'hépatite C

Wnt : Wingless et int -1

B-TrCP : Protéine contenant de la répétition de B-Transducin

# SOMMAIRE

<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>01</b>
<b>Chapitre I : Données bibliographique</b>	
<b>I.1. Rappel sur foie.....</b>	<b>02</b>
<b>I.1.1 Anatomie.....</b>	<b>02</b>
<b>I.1.2 Histologie .....</b>	<b>03</b>
<b>I.1.3 Physiologie.....</b>	<b>04</b>
<b>I.2. Données sur le carcinome hépatocellulaire.....</b>	<b>05</b>
<b>I.2.1. Epidémiologie.....</b>	<b>05</b>
<b>I.2.2. Facteurs de risque .....</b>	<b>05</b>
<b>I.2.3. Caractéristique anatomopathologie.....</b>	<b>06</b>
<b>I.2.3.1. Aspects macroscopiques.....</b>	<b>06</b>
<b>I.3.1.2. Aspects microscopiques.....</b>	<b>07</b>
<b>I.2.4. Mécanisme moléculaire de l'hépatocarcinogénèse.....</b>	<b>08</b>
<b>I.2.5. Immonohistochimie.....</b>	<b>11</b>
<b>I.3. Aspect moléculaire de la protéine <math>\beta</math>-caténine.....</b>	<b>12</b>
<b>I.3.1. Gène codant la <math>\beta</math>-caténine.....</b>	<b>12</b>
<b>I.3.2. Structure de la <math>\beta</math>-caténine.....</b>	<b>12</b>
<b>I.3.3. Multilocalisation et Multifonction de la <math>\beta</math>-caténine :.....</b>	<b>13</b>

<b>I.4. Voie de signalisation Wnt/ <math>\beta</math>-caténine .....</b>	<b>13</b>
<b>I.4.1. Activation/inhibition de la voie de signalisation Wnt/ <math>\beta</math>-caténine.....</b>	<b>13</b>
<b>I.4.2. Altérations génétiques de la voie de signalisation Wnt/ <math>\beta</math>-caténine.....</b>	<b>14</b>
<b>I.5. Mutations <math>\beta</math>-caténine définissent une classe particulière de CHC chez l'Homme...15</b>	<b>15</b>
<b>I.6. Dépistage et diagnostic .....</b>	<b>16</b>
<b>I.6.1. Dépistage.....</b>	<b>16</b>
<b>I.6.2. Diagnostic .....</b>	<b>17</b>
<b>I.6.2.1. Histologique ou Cytologique.....</b>	<b>17</b>
<b>I.6.2.2. Non invasif .....</b>	<b>17</b>
<b>I.7. Traitement.....</b>	<b>17</b>
<b>Chapitre II : Matériel et Méthode</b>	
<b>II. 1. Matériel.....</b>	<b>19</b>
<b>II. 2. Méthode.....</b>	<b>19</b>
<b>III. Résultats et Discussion .....</b>	<b>26</b>
<b>III.1. Résultats.....</b>	<b>26</b>
<b>III.2. Discussions.....</b>	<b>43</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>47</b>
<b>Référence bibliographique</b>	
<b>Annexe</b>	

# *Introduction*

## INTRODUCTION

Le carcinome hépatocellulaire (CHC) est une complication redoutable des maladies chroniques du foie. Il constitue 70-90% des cancers primitifs du foie. Il est la troisième cause de décès liés au cancer et son fardeau va en augmentant (Ntagirabiri et *al.*, 2015).

Le carcinome hépatocellulaire est lié à une hépatopathie chronique : hépatite virale B, hépatite virale C, hépatite alcoolique ou non alcoolique, hémochromatose, Il existe une filiation cirrhose–cancer bien établie ; la cirrhose constituant un véritable état précancéreux. L'oncogenèse hépatique est un processus long, multi-séquentiel et hétérogène, qui reste mal connu. De nombreuses altérations génétiques ont été décrites, aboutissant à la dérégulation de différentes voies impliquées dans le contrôle de la survie, de la prolifération, de l'apoptose, de la motilité ou de la différenciation cellulaire (maillard, 2011), comme la voie de signalisation Wnt/  $\beta$ -caténine joue un rôle clé pour déterminer des choix de destin cellulaire au cours du développement embryonnaire et pour l'autorenouvellement chez l'adulte, dans ces deux cas la molécule Wnt sont capables d'induire une cascade d'événements dont la  $\beta$ -caténine est l'effecteur principal cette signalisation fut impliquée dans la cancérogenèse (Colnot et *al.*, 2005). La  $\beta$ -caténine se comporte comme un oncogène puisque des mutations activatrices ont été mises en évidence dans le CHC .Ces mutations conduisent à une accumulation cytoplasmique, nucléaire de la protéine détectable en immunohistochimie, ces deux événements étant généralement bien corrélés. Les marqueurs tumoraux protéiques actuellement utilisés en immunohistochimie, tels que la  $\beta$ - caténine, l'alpha-foetoprotéine et l'Ag hépatocyttaire sont insuffisants pour le diagnostic, le suivi satisfaisant des patients. qui contient un grand nombre de gènes porteurs d'altérations ont été décrits dans le CHC (Saffroy et *al.*, 2004).

L'objectif principal de notre travail est d'étudier le taux et la localisation d'expression de protéine  $\beta$ -caténine par IHC, chez des patients atteints de CHC, afin de détecter le type de l'accumulation, au niveau des cellules tumorales (membranaire cytoplasmique ou nucléaire) puis relier son expression aux différents grades histologiques du CHC. L'objectif secondaire de notre travail est d'évaluer l'expression de l'Alpha foetoprotéine et Ag hépatocyttaire dans le diagnostic des CHC par IHC et de rechercher une éventuelle corrélation entre l'expression de les protéines Alpha FP et Ag hépatocyttaire et leurs grades histologiques.



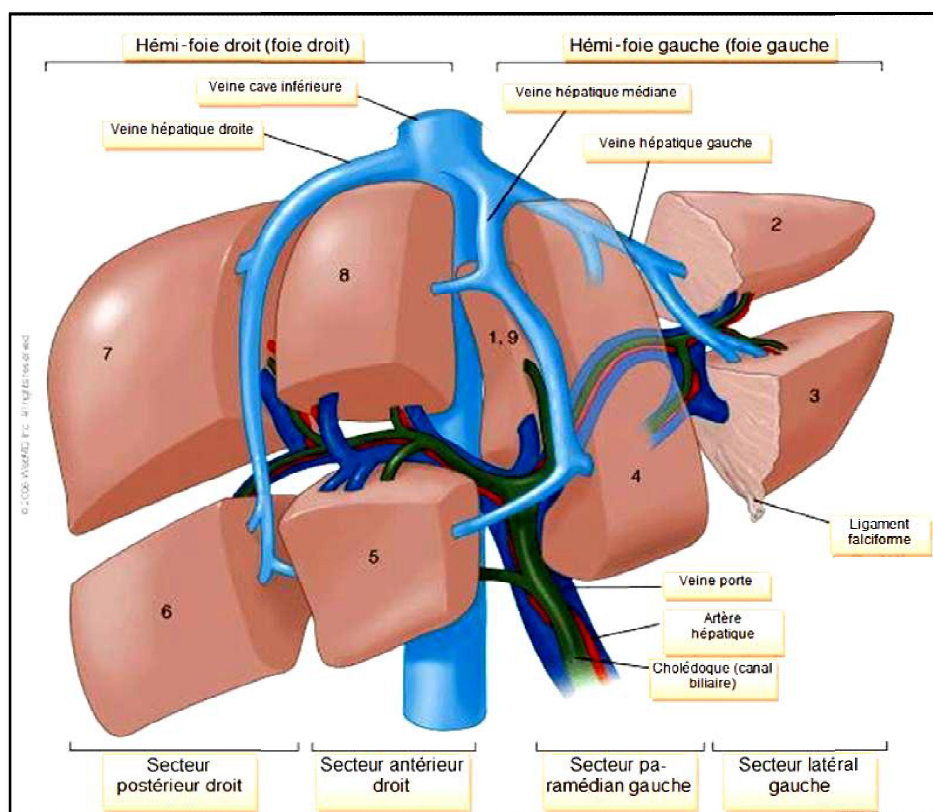
*Chapitre I*  
*Partie bibliographique*

## I.1. Rappels sur foie

### I.1.1. Anatomie

Le foie est le viscère le plus gros et le plus lourd du corps. Il est situé dans la partie supérieure droite de la cavité abdominale (Dufour, 2016). Le foie, entouré d'une capsule conjonctive de Glisson, est divisé en deux lobes droit et gauche par l'insertion du ligament falciforme. Il est subdivisé en 8 segments fonctionnels. La partie gauche comporte les segments I, II, III et IV (Counand, 2004) et la partie droite est composée de segments V à VIII qui sont vascularisés par les éléments du pédicule hépatique.

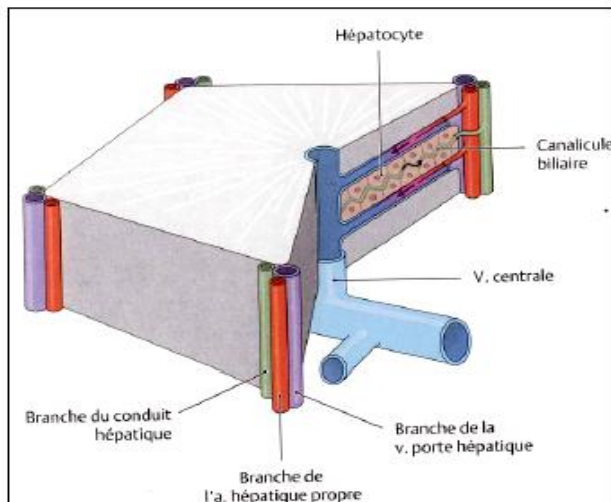
Le foie a une alimentation sanguine double. La veine porte le sang provenant du tube digestif, de la rate et du pancréas. L'artère hépatique est située en avant et sur le bord gauche de la veine porte ou elle va se diviser pour vasculariser les différents segments du foie (Figure 1). L'artère représente 20-30% de l'apport vasculaire du foie et 50% de son oxygène (Zeitou et *al.*, 2011).



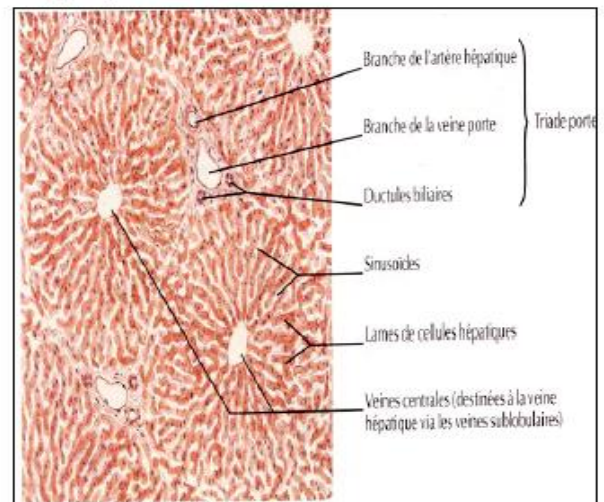
**Figure 1** : Segmentation et vascularisation du foie chez l'Homme (Counand, 2004).

## I.1.2. Histologie

Le foie est constitué d'une multitude lobules. Chacun est limité par quatre à six espaces portes et possède en son centre une veinule hépatique terminale dite Centro-lobulaire (Figures 3 et 4) (Stevens et *al.*, 2006).



**Figure 2: Structure d'un lobule hépatique.**  
(Schunke et *al.*, 2007).



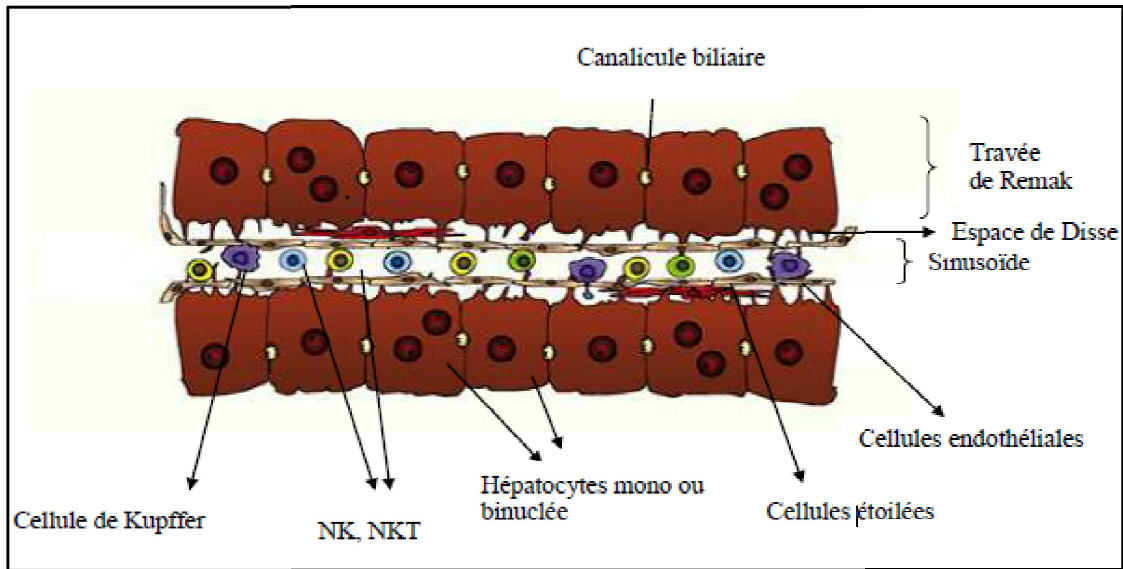
**Figure 3: Histologie d'un lobule hépatique** (Netter, 2004).

Le foie est constitué de 80% des hépatocytes organisées en travées autour des sinusoides. Ces derniers sont des capillaires fenêtrés délimités par des cellules endothéliales. Ces fenestrations facilitent les échanges bidirectionnels entre le sang et les hépatocytes (Jacobs et *al.*, 2010).

Les 20% des cellules sont représentées par :

- les cellules de Kuppfer qui sont des macrophages situés à l'intérieur du sinusoides permettent l'élimination des particules étrangères. Elles interviennent très tôt lors des processus inflammatoires en produisant de l'IL12 et IL18 qui activent les cellules cytotoxiques NK et NKT présentes en grand nombre dans le foie (Karrar et *al.*, 2007).
- les cellules endothéliales qui sont capables de produire des médiateurs de l'inflammation IL6 et IL1 et d'exprimer des protéines membranaires d'adhésion (Karrar et *al.*, 2007).

- Les cellules de Ito: ont comme fonction le métabolisme de la vitamine A et des lipides et la fabrication de la matrice extra-cellulaire autour des cellules endothéliales.
- les cellules des canaux biliaires, les lymphocytes hépatocytaires ,et les cellules ovals ayant une fonction de régénération des hépatocytes et des cellules endothéliales (Lovet et *al.*, 2003) .



**Figure 4 : Principaux types cellulaires dans le parenchyme hépatique.**  
(Lapierre et *al.*, 2007).

### I.1.3. Rôles physiologiques

Le foie est un organe complexe, impliqué dans de nombreuses fonctions vitales de l'organisme. Il joue un rôle principal dans le maintien de la glycémie e, stockant le glucose sous forme de glycogène. Le foie aide à digérer les graisses en sécrétant la bile et en synthétisant des apoprotéines qui permettent le transport des lipides (Cambus, 2002 ). Il joue un rôle central dans l'épuration grâce aux macrophages qui détruisent les bactéries (Benhamou et *al.*, 2008 ) et en filtrant le sang de nombreuses substances toxiques endogènes et exogènes (Nguyen et *al.*, 2003).

Le foie synthétise l'urée, l'albumine, les protéines de l'hémostase, les protéines de l'inflammation, certains facteurs de croissance, le cholestérol et joue un rôle majeur dans la détoxification du sang et dans les stockages des vitamines (Mange, 2006).

## I.2. Données sur le carcinome hépatocellulaire

### I.2.1. Epidémiologie

Le carcinome hépatocellulaire (CHC) représente 80% à 90 % des tumeurs primitives malignes hépatiques dérivées des hépatocytes et se développe le plus souvent sur une maladie chronique du foie sous jacente soit 90 % des cas, généralement au stade de cirrhose (80–85 % des cas) (Blanc, 2017).

Il s'agit du sixième cancer le plus courant dans le monde, étant le cinquième chez les hommes et le huitième chez les femmes. Cela représente approximativement 5,7% de tous les nouveaux cas de cancer (Zhu et *al.*, 2016). Le CHC se développe rarement avant l'âge de 40 ans et atteint un maximum de fréquence chez les personnes de plus de 70 ans (El Serag, 2011).

La distribution de CHC varie en fonction de la situation géographique. Le fardeau de la maladie est le plus élevé dans les zones où l'infection par le VHB endémique, comme en Afrique subsaharienne et en Asie de l'Est. Les pays méditerranéens tels que l'Italie, l'Espagne et la Grèce ont des taux d'incidence intermédiaires de (10-20 par 100 000 individus), tandis que l'Amérique du Nord et du sud ont une incidence relativement faible (<5 pour 100 000 individus) (Metall et *al.*, 2013).

### I.2.2. Facteurs de risque

Les facteurs de risque du CHC sont caractérisés par une variabilité interindividuelle et dépendent de la région géographique, de la race ou du groupe ethnique. Ces facteurs sont globalement les mêmes que ceux de la cirrhose dans 90% des cas. Les plus fréquents sont les infections par :

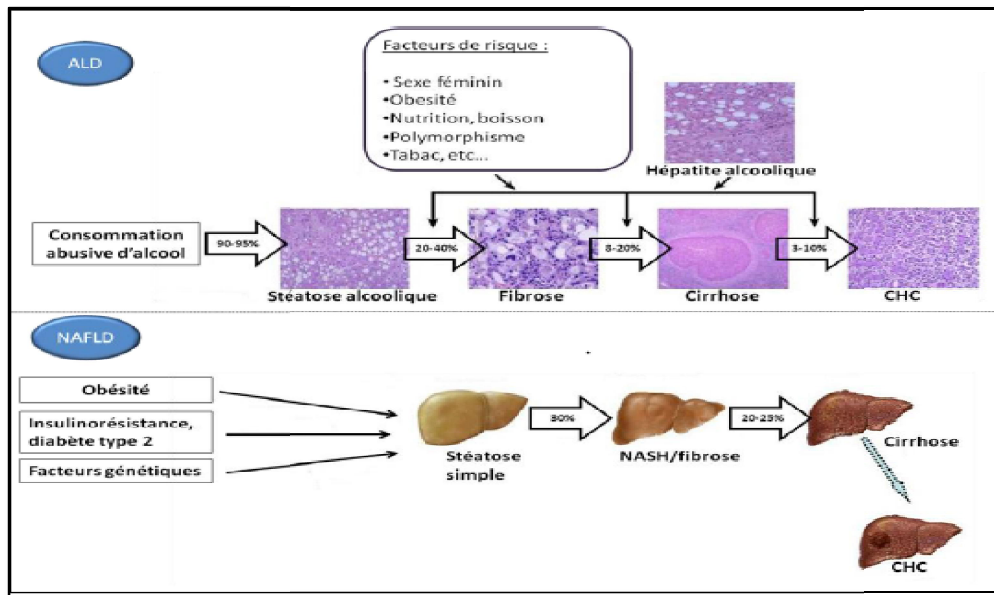
- les virus de l'hépatite B (HBV) et de l'hépatite C (HCV) avec une contribution d'environ 80% (Zhu et *al.*, 2016).

-les maladies associées à la consommation d'alcool (ALD) pouvant inclure une stéatose alcoolique associée ou non à une fibrose hépatique. La stéatose hépatique simple (NASH) ou alcoolique est associée à une accumulation de triglycérides dans les hépatocytes et à une inflammation préparant le terrain pour la fibrose (Mittal et *al.*, 2013).

-Des maladies non associées à la consommation d'alcool mais causant une accumulation d'acides gras dans le foie (NAFLD) présentes chez les personnes obèses et chez les

diabétiques de type 2. Chez certains patients, les NAFLD peuvent évoluer vers une stéatose hépatique simple non alcoolique (Figure 5).

- L'exposition à des toxines comme l'aflatoxine B1, les fumonisines et le tabac.



**Figure 5 : Facteurs de risque du carcinome hépatocellulaire (Pellanda, 2012 ).**

- Des causes moins communes sont l'hémochromatose héréditaire (surcharge de fer), le déficit en alpha 1-antitrypsine, l'hépatite auto-immune, la cirrhose biliaire primitive, la porphyrie et la maladie de Wilson sont également des facteurs pouvant déclencher l'apparition de CHC (El-Serage et *al.*, 2014).

### I.2.3. Caractéristiques anatomopathologiques

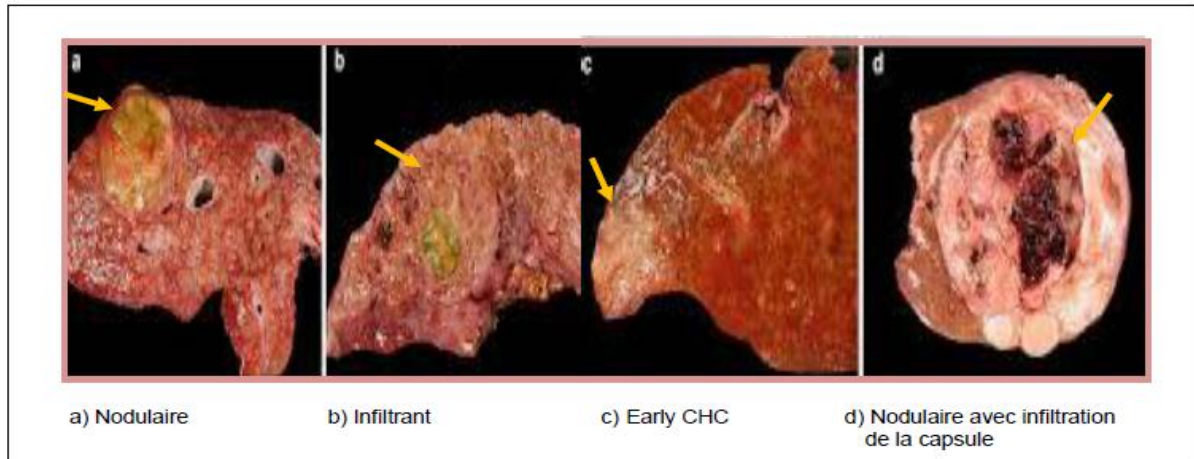
#### I.2.3.1. Aspects macroscopiques

Le CHC peut se présenter macroscopiquement sous quatre types selon la classification d'Egel (Figure 6) (Valerie, 2013):

- le type infiltrant: tumeur unique, avec des limites imprécises, non encapsulée, très souvent propagée au système veineux, plus fréquent sur foie non cirrhotique que sur foie cirrhotique.
- le type expansif: une ou plusieurs tumeurs nodulaires, encapsulées, repoussant le parenchyme hépatique avoisinant sans l'envahir. Pas d'embolies veineux. Il est décrit surtout sur le foie cirrhotique.

- le type mixte : type expansif avec infiltration au-delà de la capsule contiguë ou à distance.
- le type diffus: multiples nodules de 0,5 à 1cm de diamètre, répartis dans un foie cirrhotique et ne fusionnant pas.

Les métastases sont tardives et touchent essentiellement les poumons, surrénales, os, tube digestif, rate, cœur, et ganglions. Elles sont souvent difficiles à détecter.



**Figure 6 : Aspects macroscopiques des CHC (Valerlie, 2013).**

### I.2.3.2. Aspects microscopiques

L'architecture de la prolifération tumorale reproduit celle du foie, c'est à dire une organisation en travées séparées par des sinusoides. Cependant les travées de cellules tumorales sont plus épaisses que dans du foie normal ( $\geq$  à 3 cellules) et il existe une diminution du collagène péri-sinusoidal mis en évidence par les colorations de la réticuline ou de rouge Sirius. L'architecture peut également être pseudoglandulaire (formation d'acini par dilatation du canalicule biliaire) ou compact avec des massifs de cellules tumorales sans travées ni sinusoides. On peut également observer des remaniements à type de péliose (dilatation des sinusoides), d'hémorragie ou de nécrose. Les cellules tumorales des CHC peuvent comporter des vacuoles de stéatose.

Plusieurs systèmes de classification anatomopathologique ont été proposés (Guichard et al., 2012).

➤ **Classifications histopathologiques des hépatocarcinomes**

La classification histopathologique d’Edmondson et Steiner décrit quatre grades en fonction de l’intensité de la dédifférenciation et des atypies mais son utilisation à visée pronostique ou thérapeutique n’a pas été démontrée. Actuellement, l’Organisation Mondiale de la Santé (OMS) propose de classer les CHC en tumeurs bien, moyennement et peu différenciées:

Grade 1 au 2 : CHC bien différencié (difficile à distinguer du tissu non tumoral).

Grade 3 : CHC moyennement différencié.

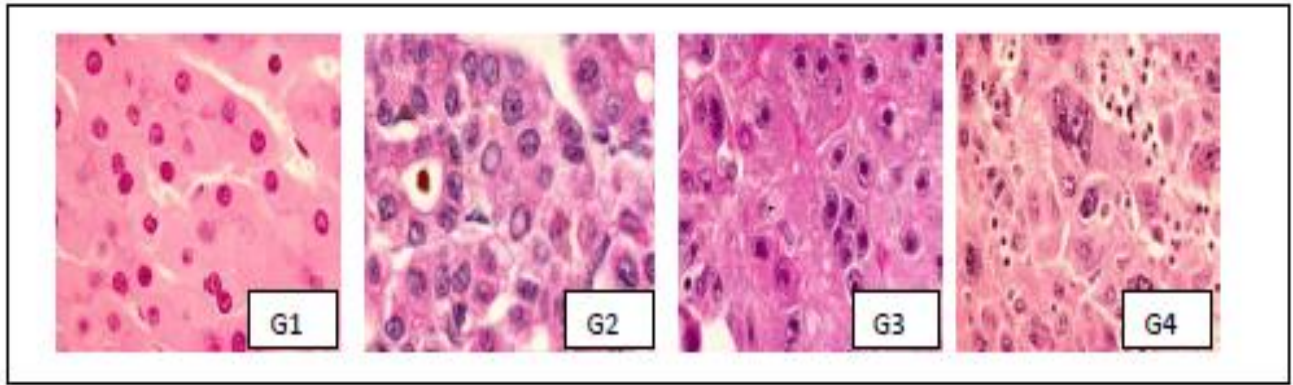
Grade 4 : CHC peu différencié (Guichard *et al.*, 2012) (Figure 7, Tableau I).

**Tableau I: Classification histologiques des CHC d’Edmondson et Steiner / OMS**

<b>Auteurs</b>	<b>Principales catégories</b>	<b>Caractéristiques</b>
<b>OMS 2000</b>	Bien différencié	Architecture trabeculaire ou pseudo-acineuse , atypies cytonucléaires modérées.
	Moyennement différencié	Architecture trabeculaire atypies cytonucléaires marquées .
	Peu différencié	Architecture compact, atypies cytonucléaires marquées.
<b>Edmonson et steiner(1954)</b>	Grade I	Hépatocytes très bien différenciés semblables à des cellules normales.
	Grade II	Hépatocytes bien différenciés possédant des changements faibles mais bien définis .
	Grade III	Hépatocytes pléiomorphes à noyaux proéminants . quelques cellules géantes plurinucléés.
	Grade IV	Hépatocytes anaplasiques , cytoplasme réduit et noyaux proéminants.

(Guichard *et al.*, 2012)





**Figure 7** : Aspects microscopiques des CHC (Valerlie, 2013)

### ➤ Formes particulières de CHC

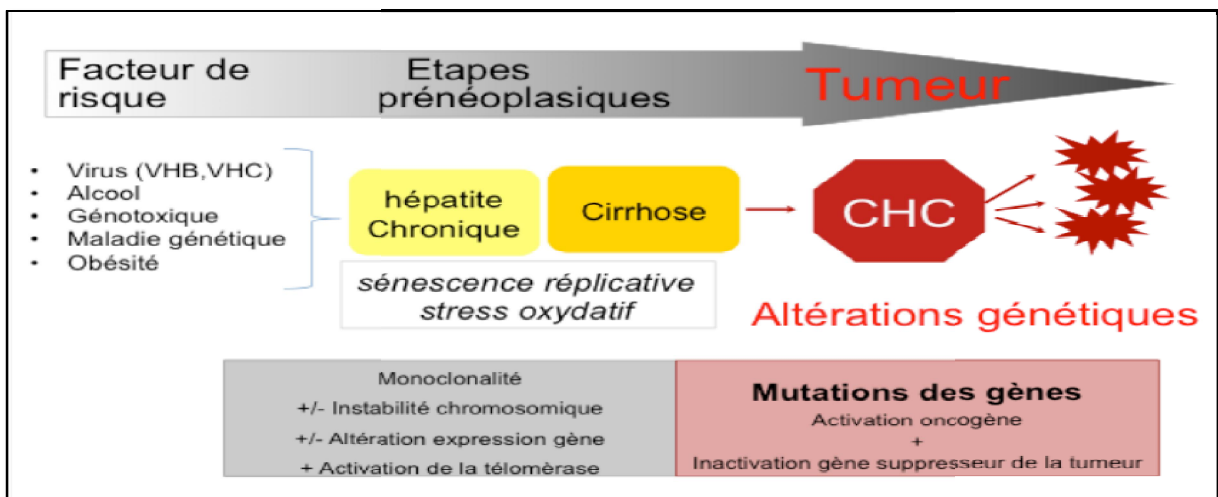
Les variantes morphologiques sont les suivantes (Guichard et *al.*, 2012) .

- L'hépto-cholangiocarcinome : il s'agit d'une tumeur très rare avec une double différenciation: une différenciation hépatocellulaire et une différenciation cholangiocellulaire avec production de mucus. Dans une même tumeur, les deux composants sont étroitement liés.
- Le CHC fibrolamellaire : il s'agit également d'une tumeur très rare, survenant chez l'adulte jeune sur un foie non cirrhotique. Le CHC fibrolamellaire a un meilleur pronostic que le CHC classique. Les cellules tumorales sont de grande taille, polygonales, oncocytaires (aspect très éosinophile du cytoplasme). Elles sont organisées en travées ou amas, séparés par d'épaisses lames de collagène hyalinisé.
- Le CHC sclérosant : les travées de cellules tumorales ne sont pas séparées par des sinusoides mais sont entourées par de la fibrose dense. Les principaux diagnostics différentiels du CHC sclérosant sont le Cholangiocarcinome et la métastase hépatique d'un adénocarcinome.
- Le CHC à cellules claires : les cellules tumorales ont un aspect clair par accumulation de glycogène ou de graisses dans le cytoplasme. Les principaux diagnostics différentiels sont la métastase d'un cancer du rein ou de la surrénale.
- Le CHC à cellules fusiformes : les cellules tumorales sont fusiformes et agencées en faisceaux. Le diagnostic différentiel est celui de sarcome.

- Le CHC anaplasique : les cellules tumorales sont très atypiques, monstrueuses, parfois multinuclées. Il est alors très difficile de reconnaître la différenciation hépatocytaire.

**I.2.4. Mécanisme moléculaire de l'hépatocarcinogénèse**

L'atteinte la plus caractéristique dans l'hépatocarcinogénèse est une lésion hépatique chronique sous-jacente qui conduit à des cycles répétés de mort des hépatocytes, une inflammation et une prolifération cellulaire compensatrice (la régénération des hépatocytes), fournissant un environnement mutagène conduisant au développement du CHC (Nakagawa et al., 2012). La carcinogénèse hépatique est un processus multi-étapes. Les hépatites chroniques et la cirrhose étant les étapes prénéoplasiques (Sakamoto et al., 1991). En effet, dans la plupart des cas, durant surtout la phase de développement de la cirrhose, des phénomènes d'inflammation et de sénescence réplivative vont entraîner une accumulation d'altérations génétiques qui vont favoriser la sélection d'hépatocytes transformés (Figure 8).



**Figure 8: Hépatocarcinogénèse (Laurent-Puig et al., 2006).**

Ces altérations génétiques peuvent être divisées en deux groupes (Laurent-Puig et al., 2006).

- Le premier groupe comprend l'ensemble des modifications génétiques spécifiques liées aux différents facteurs de risque de la tumeur hépatocellulaire.
- le deuxième groupe est constitué de l'ensemble des altérations génétiques non spécifiquement liées aux étiologies, y compris les gains et les pertes récurrentes de chromosomes, les modifications épigénétiques, les mutations d'oncogènes et des gènes suppresseurs de tumeur dans les CHC.

## I.2.5. Immunohistochimie

Dans le CHC, certains marqueurs sont positifs et peuvent orienter le pronostic. Ces marqueurs sont : CK7+ dans 5 % des CHC (la plupart des CHC fibro-lamellaires sont CK7+) et CK18 +, Ag Hépatocytaire + dans 90 % des CHC, alpha-foeto-protéine dans 30% des cas, Anti-ACE polyclonal dans 75 % à 90 % des cas, anti-CD10 dans 50 % à 70 % des cas (Lauet et *al.*, 2002).

### ➤ l'Antigène hépatocytaires.

L' Antigène Spécifique Anti-Hépatocyte reconnaît les tissus du foie, aussi bien bénins que malins, y compris les tumeurs telles que hépatoblastome, carcinome hépatocellulaire. Il reconnaît le tissu du foie aussi bien foetal qu'adulte. Le modèle typique est une coloration cytoplasmique granuleuse. Cet anticorps est utile pour différencier les carcinomes hépatocellulaires à caractéristique adénoïde des adénocarcinomes, soit principalement dans le foie ou dans les lésions métastatiques du foie. Parce qu'il reconnaît l'hépatoblastome , hépatocarcinome, cet anticorps est utile pour différencier cette entité des autres tumeurs à petite cellule ronde (Chu P et *al.*,2002).

### ➤ l'alpha-fœtoprotéine.

Avec cet anticorps, une maquage positif est obtenu dans des cas d'hépatocyte du foie foetal et des cas d'hépatocarcinome. Etant donné que seules des traces de AFP sont trouvées dans le sérum adulte, des taux élevés suggèrent une lésion maligne du foie, soit un carcinome hépatocellulaire (La valeur de l'alpha-fœtoprotéine étant normale dans 80% des CHC de petite taille). Conjointement à des taux de sérums élevés, AFP a été démontré par immunohistochimie dans des cas de tumeurs malignes du foie et de quelques autres neoplasies. (Desbene C.,2013).

I.3. Aspect moléculaire de la protéine  $\beta$ -caténine

I.3.1. Gène codant la  $\beta$ -caténine :

La  $\beta$ -caténine est codée par le gène CTNNB1, localisé sur le bras court de chromosome 3 en position (p21-p22), composé de 16 exons, formée de 781 acides aminés de 88 KDa. Les mutations et la surexpression de la  $\beta$ -caténine sont associées à de nombreux cancers, y compris le carcinome hépatocellulaire (Rogackial et *al.*,2015).

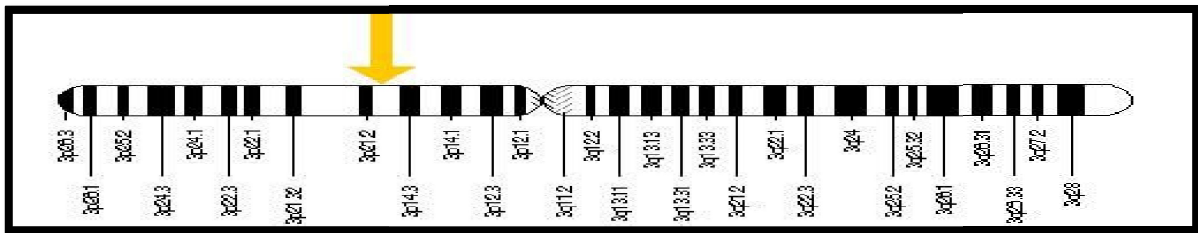


Figure 9: schéma représentative de gène CTNNB1 (Huber et *al.*, 2001).

I.3.2. Structure de la  $\beta$ -caténine :

Trois domaines importants ont été identifiés sur la bêta caténine :

- Un domaine N-terminale : d'environ 130 acides aminés, possédant de multiples sites de phosphorylation par la GSK-3b , par la caséine Kinase Ia (CKIa) et un site de fixation (sérines33/37) à la protéine b-TrCP initiatrice du processus de dégradation par le proteasome.
- Un domaine central : de 550 acides aminés comprenant 12 ARD (Armadillo Repeat Domain) de 42 acides aminés chacun. Reconnaissant notamment la protéine Apc, l'axine/conductine ou encore les facteurs de transcription de la famille TCF.
- Un domaine C-terminale : de 100 acides aminés ayant une fonction de signalisation par sa capacité à activer la transcription (niveau nucléaire) (Peifer, 1997 )...

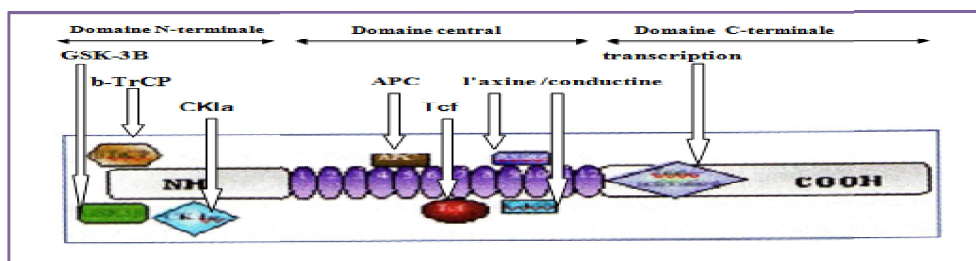


Figure 10 : La structure de la protéine la  $\beta$ -caténine (Peifer, 1997 ).

**I.3.3. Multilocalisation et Multifonction de la  $\beta$ -caténine :**

La  $\beta$ -caténine est une protéine intracellulaire (Saffroy et al, 2004) présente dans les différents compartiments de la cellule et joue des rôles différents en fonction de sa localisation subcellulaire (Eguether,2010).

- **Au niveau membranaire :**  $\beta$ -caténine est impliquée dans l'adhérence cellulaire en reliant les cadhérines aux filaments d'actine ( Eguether,2010)
- **Au niveau cytoplasmique :** elle intervient dans la voie de signalisation Wnt / $\beta$ -caténine ( Tekeda et al., 2000)
- **Au niveau nucléaire :**  $\beta$ -caténine agit comme facteur de transcription, en association avec les facteurs Lef/Tcf ( Lymphohoid Enhancer Factor /T Cell Factor ).Ce complexe est capable dérégler la transcription de différents types de gènes.(Eguether ,2010).

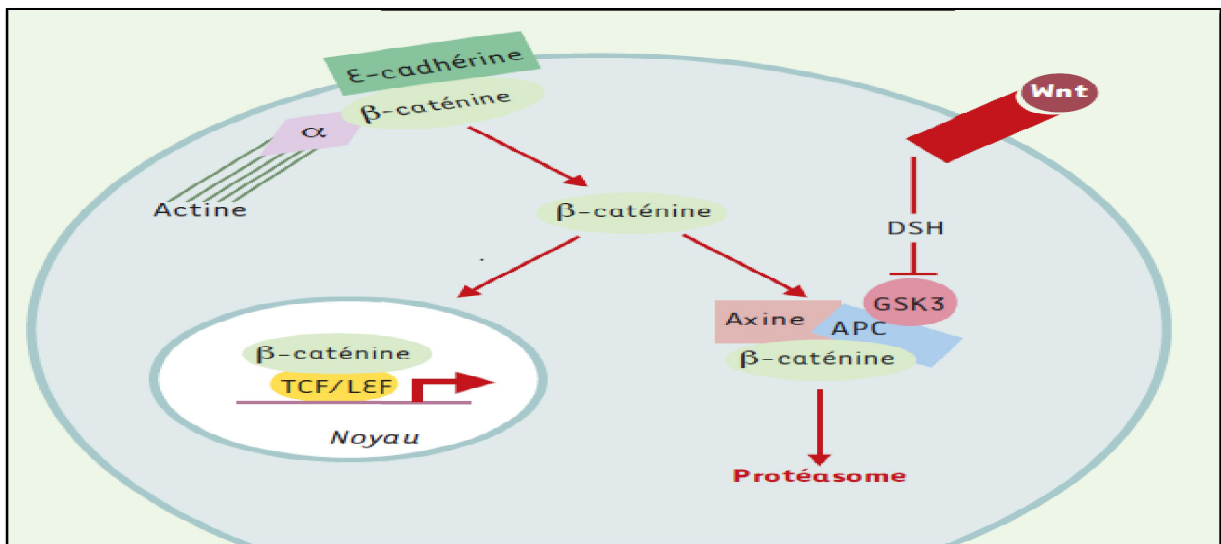
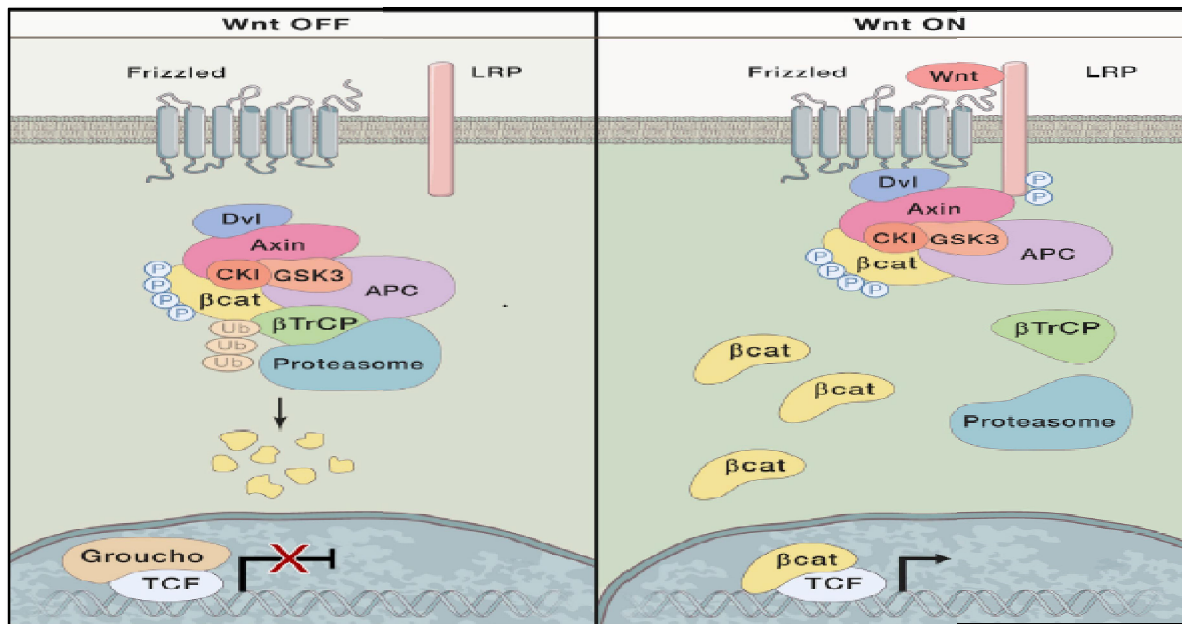


Figure 11: Multilocalisation et Multifonction de la  $\beta$ -caténine (Moro et al., 2002).

**I.4. Voie de signalisation Wnt/  $\beta$ -caténine :**

**I.4.1. Activation/inhibition de la voie de signalisation Wnt/  $\beta$ -caténine**



**Figure 12:** Représentation de la voie de signalisation Wnt/  $\beta$ -caténine (Nusse et al., 2017).

En absence de signal WNT la  $\beta$ -caténine est partie intégrante d'un complexe multi-protéique composé de l'Axine de CKI, de la GSK, et APC au sein de ce complexe, l'interaction entre l'Axine et GSK 3 $\beta$  semble favoriser la phosphorylation de la  $\beta$ -caténine, permettant le recrutement de B-TrCP protéine initiateur du processus d'ubiquitination de la  $\beta$ -caténine et sa dégradation ultérieure par le protéasome (Nusse et al., 2017).

En présence de signal le ligand Wnt se lie au récepteur transmembranaire frizzled (FZD) et au récepteur membranaire (LRP-5/6), ce qui recrute une protéine décollée Dishvelled (DVL) qui inhibe le complexe multi-protéique de destruction des  $\beta$ -caténines, le complexe multi-protéique constitué notamment des protéines APC, Axine et de GSK-3 $\beta$ . Cela conduit à une inhibition de la phosphorylation et la dégradation de la protéine  $\beta$ -caténine. Par conséquent, la  $\beta$ -caténine s'accumule dans le cytoplasme et se diffuse dans le noyau, se lie à d'autres facteurs de transcription LEF/TCF et active l'expression des gènes spécifiques (Rogacki et al., 2015).

#### I.4.2 Altérations génétiques de la voie wnt $\beta$ -caténine

L'activation de la voie WNT/  $\beta$ -caténine était la principale voie oncogénique impliquée dans l'hépatocarcinogénèse. Elle joue un rôle clé dans la physiologie hépatique, en termes de différenciation, de renouvellement des cellules souches, de prolifération, d'adhésion cellulaire

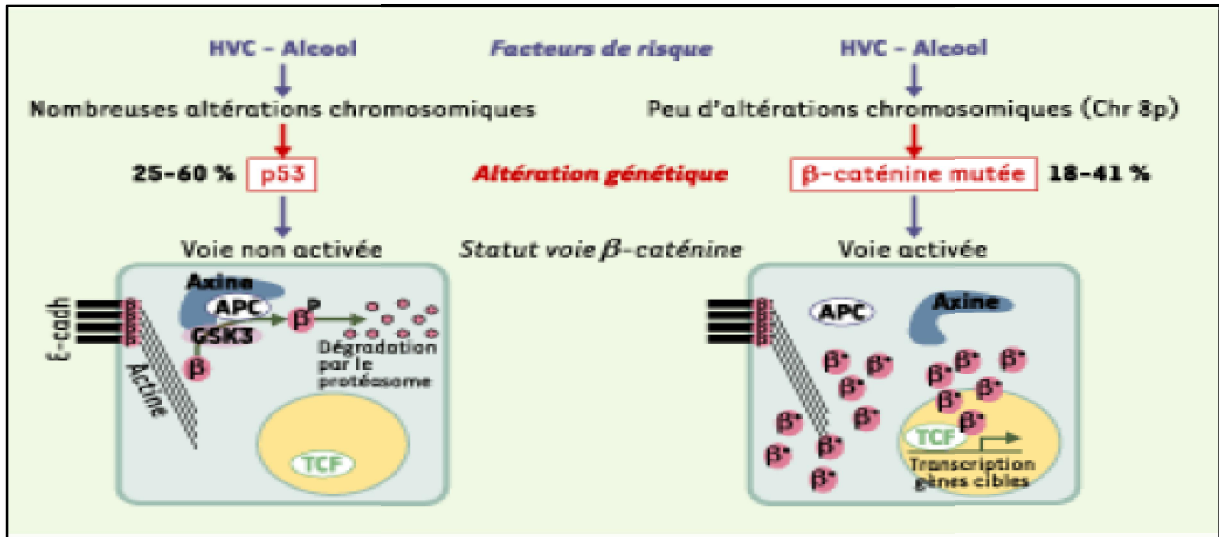
et de régénération du foie (Pez *et al.*, 2013). Des mutations somatiques activatrices du gène CTNNB1 codant la  $\beta$ -caténine ont été identifiées dans 10 à 32% des CHC, selon les étiologies (Laurent-Puig *et al.*, 2006). Ces mutations induisent l'accumulation de la  $\beta$ -caténine dans le noyau des hépatocytes. Les mutations somatiques se trouvent dans l'exon 3 du gène CTNNB1 (Li *et al.*, 2011) de l'extrémité 5' touchant généralement une sérine/thréonine cible de la GSK-3b (Saffroy, 2004). Les mutations dans les exons 7 et 8 du gène CTNNB1 ont été décrites récemment dans les CHC (Pilati *et al.*, 2014), et les mutations inactivatrices de l'AXIN1 présentes dans 8-15% des CHC, peuvent aussi activer la voie WNT/ $\beta$ -caténine (Nault *et al.*, 2011). L'APC est une protéine fondamentale pour le recrutement de la  $\beta$ -caténine dans son complexe de dégradation, où elle va subir une première phosphorylation par la CK1 puis des phosphorylations par la GSK3. Si APC n'est pas fonctionnel, la  $\beta$ -caténine n'est plus dégradée, elle peut transloquer dans le noyau, même s'il n'y a pas des signaux WNT à la membrane, et activer la transcription de ses gènes cibles (Sartor, 2015).

## **I.5. Les mutations $\beta$ -caténine définissent une classe particulière de CHC chez l'Homme**

La voie de signalisation Wnt/béta-caténine joue un rôle clé pour déterminer des choix de destin cellulaire au cours du développement embryonnaire et pour l'autorenouvellement de cellules souches chez l'adulte : dans ces deux cas, les facteurs sécrétés Wnt sont capables d'induire une cascade d'événements dont la  $\beta$ -caténine est l'effecteur principal, cette signalisation fut impliquée aussi dans la cancérogenèse (Figure 13)

Le groupe de J. Zucman-Rossi a pu montrer que la voie bêta-caténine, quand elle est activée par une mutation du gène  $\beta$ -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 (Figure 13) (Colnot *et al.*, 2005).

Les deux autres grandes voies, notamment celle de p53, intervenant dans le cadre d'une hépatite virale B, sont, quant à elles, associées à un contexte chromosomique très instable faisant intervenir de nombreuses pertes alléliques, favorisant la perte de gènes suppresseurs de tumeurs (Colnot *et al.*, 2005).



**Figure13: Voie  $\beta$ -caténine et son activation aberrante dans les carcinomes hépatocellulaire (Colnot et *al.*,2005)**

Les facteurs de risque que sont les hépatites virales B (HVB) et les hépatites virales C (HVC) ou la prise d'alcool, définissent deux voies de carcinogénèse hépatique. Aux altérations génétiques inactivant la voie p53 (perte 17p, mutations p53) correspond globalement une voie  $\beta$ -caténine non activée, où la  $\beta$ -caténine ne joue un rôle que dans l'adhérence cellulaire en liant la E-cadhérine au cytosquelette d'actine : dans ce cas, un complexe multiprotéique, orchestré par l'axine et incluant APC, permet la phosphorylation de la  $\beta$ -caténine par la kinase GSK3  $\beta$ , puis son ubiquitinylation et sa dégradation par le protéasome. Dans un contexte où la  $\beta$ -caténine est mutée au niveau de ses sites de phosphorylation par GSK3  $\beta$ , une activation constitutive du signal  $\beta$ -caténine se produit : la  $\beta$ -caténine ne peut plus être dégradée, s'accumule dans le noyau, et associée aux facteurs de transcription de la famille LEF/TCF, elle induit la transcription de gènes cibles. (Colnot et *al.*,2005).

## I.6. Dépistage et diagnostic:

### I.6.1. Dépistage

Le CHC est une maladie d'intérêt de santé publique mondial. Par conséquent, les patients atteints de cirrhose, porteurs du VHB ou ayant une maladie métaboliques sont une population à risque défini où le dépistage est vivement recommandé. Les examens préconisés actuellement sont le dosage de l'AFP sérique et l'échographie hépatique tous les six mois (Audureau, 2011).



## I.6.2 Diagnostique

### I.6.2.1 Histologique ou Cytologique

Lorsque le foie est supposé non cirrhotique, la ponction-biopsie est indispensable au diagnostic du CHC. Une ponction du foie sain est également recommandée. Celle-ci s'effectue par guidage sous échographie ou scanner.

Lorsque la cirrhose est avérée par des critères radiologiques et/ou biologiques, la ponction-biopsie n'est pas indispensable. Si un traitement chirurgical est envisagé, elle est même relativement contre-indiquée (risque d'essaimage sur le trajet de ponction) (Audureau, 2011).

### I.6.2.2 Non invasif

Le diagnostic non invasif repose sur la réalisation d'examen radiologiques et sur le dosage de l'AFP. L'examen de diagnostic le plus répandu est la tomodensitométrie TDM spiralée avec injection de produit de contraste et images réalisées aux temps artériels précoces parenchymateux et portal. L'IRM est parfois préférée car plus sensible pour les petits CHC (Audureau, 2011).

#### ➤ Classification TNM

Il s'agit de la classification clinique pré-thérapeutique de la tumeur (Tableau2), (annexe 1)

## I.7. Traitements

Le traitement clinique du CHC reste difficile en raison du haut taux de la récurrence des patients atteints et de l'aspect asymptomatique des premiers stades de la maladie (Tang et *al.*, 2010).

Le traitement du CHC est conventionnellement divisé en traitement curatif et palliatif (annexe 1). (Ganne-carrie et *al.*, 2002)

#### ❖ traitement curatif :

Chez les malades atteints d'un petit carcinome hépatocellulaire.

- **Résection chirurgicale** : c'est une ablation localisée qui préserve la fonction du foie. C'est généralement la première option envisagée.

- **Transplantation hépatique** : c'est une intervention chirurgicale lourde qui consiste à remplacer un foie malade par un foie sain provenant d'un autre individu en état de mort cérébrale (allogreffe).

- **L'ablation percutanée** : c'est une suppression des tissus à l'aide d'un courant électrique continu ou alternatif (radiofréquences) délivré par des électrodes placées à l'extrémité distale d'un cathéter.

❖ **traitement palliative :**

Il consiste via différents traitements de type chimiothérapie, radiothérapie, chirurgie, chimioembolie, injection d'alcool ou gel de la tumeur, à ralentir la croissance du cancer et à soulager les symptômes tels que la douleur, les problèmes respiratoires, la perte de poids ou encore la jaunisse (Chan et *al.*, 2011).

***Chapitre II***  
***Matériels et Méthodes***

Notre étude est effectuée au niveau du laboratoire d'anatomo-pathologie du C.H.U. Mustapha Bacha à Alger pendant 6 mois, de janvier à juin 2017.

### **II.1.MATERIEL**

#### **II.1.1. Matériel biologique**

L'étude rétrospective porte sur 35 patients atteints de CHC dont 23 Hommes et 12 Femmes. Le prélèvement consiste en une ponction-biopsie hépatique (PBH) à visée diagnostique : présence de tumeur maligne (cancer primitif du foie). La ponction s'effectue sous contrôle échographique ou scannographique.

#### **II.1.2.Matériel non biologique**

##### **II.1.2.1.Appareillage et réactifs :**

L'appareillage, verreries et réactifs utilisés dans notre étude sont représentés dans l'annexe 1. Les réactifs sont destinés à la réalisation des études anatomoclinique, histopathologique et immunohistochimique sur des biopsies hépatiques ou des pièces opératoires.

### **II.2.METHODES**

#### **II.2.1.Etude rétrospective**

Cette étude est effectuée à partir des blocs de paraffine archivés, comportant des fragments de pièces opératoires ou des fragments biopsiques. Les renseignements cliniques sont relevés à partir des fiches des patients (Annexe 1). Les fiches reviennent aux patients recrutés d'avril 2013 à avril 2017 (annexe 1). Les blocs ont fait l'outil de trois techniques : anatomoclinique, histopathologie et immunohistochimie.

### II.2.1.1. Examen anatomoclinique

La technique anatomoclinique est basée sur la recherche des paramètres qui ont relation avec le malade et sa tumeur : l'âge du malade, son sexe, le siège anatomique de la tumeur et sa taille.

### II.2.1.2. Examen histopathologique

- L'examen macroscopique, un examen à l'œil nu des pièces opératoire, permet une description des caractères macroscopiques du tissu tumoral : taille couleur, consistance, limitation, la tranche de section, le nombre de ganglions ..... Etc.



**Figure 14:** Vue macroscopique d'un carcinome hépatocellulaire.

Après la prise des échantillons, ces derniers sont placés dans des cassettes en plastiques sur lesquelles est inscrit le numéro d'immatriculation. Les échantillons sont ensuite destinés à l'étude microscopique.

- L'examen microscopique est réalisée en plusieurs étapes (Martoja et Martoja,1967 ; modifié) :
- ✚ Fixation : Elle est réalisée grâce à un agent fixateur le formol qui a pour but la conservation des structures, le durcissement des pièces histologiques ainsi que l'inhibition de l'autolyse liée essentiellement à la dégradation protéique. Les prélèvements sont plongés dans une solution de formol à 10 % tamponné (09 volumes d'eau distillée pour 1 volume de formol 37%). La durée de fixation varie selon le

volume des prélèvements (4 à 6 h pour le prélèvement biopsique hépatique et 12-24h pour les pièces opératoires).

- ✚ Circulation : Elle comprend trois étapes :
    - La Déshydratation permet de débarrasser le tissu de l'eau qu'il contient. Elle consiste à faire passer l'échantillon contenu dans les cassettes d'inclusion dans 3 bains d'alcool à concentration croissante 70, 90, et 100 % respectivement pendant 2 h .
    - Eclaircissement consiste à éliminer l'alcool utilisé dans la déshydratation, en passant les échantillons dans deux bains de xylène.
    - Imprégnation : permet de remplacer l'eau éliminée lors de la déshydratation par la paraffine liquéfiée pour donner une rigidité au tissu qui lui permettra de garder sa forme interne au moment de la coupe. L'imprégnation se fait par le passage des échantillons dans trois bains de paraffine liquéfiée à 54°C pour une durée de deux heures pour chacun.
    - Inclusion (Enrobage) : L'échantillon est immergé dans de la paraffine chauffée, à une température dépassant juste son point de fusion, dans des moules afin de d'obtenir des blocs de paraffine après refroidissement.
  - ✚ Réalisation des coupes : Les blocs bien refroidis sont montés dans le porte-bloc du microtome pour subir un dégrossissement afin d'éliminer le surplus de paraffine. L'épaisseur de la coupe définitive est réglée à 3  $\mu$ m pour obtenir des rubans.
  - ✚ Etalement sur lames : Les rubans de coupes obtenus sont mis dans un bain marie réglé à 37°C pour éviter les pliures puis sur des lames numérotées. Les lames sont placées dans un panier pour lames et séchées dans une étuve.
  - ✚ Coloration : la coloration choisie est l'Hématoxyline-Eosine qui est une coloration topographique dite de routine. Cette coloration permet l'identification des caractères histologiques d'un tissu biologique en associant une coloration nucléaire par l'Hématoxyline de Harris à une coloration cytoplasmique par l'éosine. L'Hématoxyline de Harris est un colorant basique qui colore les noyaux en bleu tandis que l'éosine est de nature acide qui colore le cytoplasme en rose.
- Avant d'entamer la technique de coloration. Les coupes passent par le déparaffinage et la réhydratation. Pour déparaffiner les lames, celles-ci sont incubées dans l'étuve à 70°C pendant 20 à 25 minutes afin d'éliminer totalement la paraffine et de fixer le tissu sur la lame. Les lames sont ensuite transférées dans 2 bains de xylène, le 1<sup>er</sup> bain

pendant 5 minutes et le 2<sup>ème</sup> bain pendant 10 minutes afin d'éliminer la paraffine qui enrobe la coupe du tissu.

La Réhydratation est faite par le passage des lames dans des bains alcool à concentration décroissante (100%, 90% et 70%) de 5 minutes chacun. Les lames passent ensuite au rinçage à l'eau pour éliminer toutes traces d'alcool et permettre la réhydratation du tissu.

✚ Montage : Le montage entre lame et lamelle est nécessaire pour l'examen au microscope. La coupe colorée est protégée par une lamelle de verre contre les bris mécaniques et la dégradation chimique de la coloration. Cette étape est rapide, réalisée à l'aide d'une colle spéciale. l'Eukitt (Monting Medium).

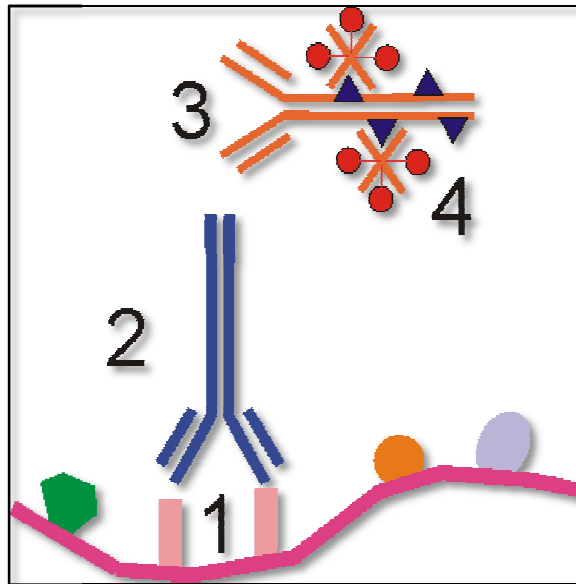
Avant le montage, les coupes passent par la déshydratation qui se fait par un passage des lames dans trois bains d'alcool de concentration croissante 70%, 90% et 100% et l'éclaircissement où les lames sont immergées dans un bain de xylène pour l'éclaircissement. Ensuite, les lames sont séchées dans l'étuve.

✚ Observation au microscope : est effectuée au microscope optique aux différents grossissements (x40, x100 et x400).

### II.2.1.3. Examen immunohistochimique

- Objective : elle permet la révélation de protéines spécifique et leur expression 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 : L'examen immuno-histochimique (IHC) consiste à révéler sur coupe histologique, par réaction antigène-anticorps, la présence de récepteurs antigéniques cellulaires intranucléaires, membranaires ou cytoplasmiques. Cet examen est généralement employé pour détecter et assurer le suivi des cancers grâce à la détection de tumeurs cancéreuses. Ainsi, de nombreux marqueurs spécifiques ont été découverts pour repérer différents cancers, comme l'antigène carcino-embryonnaire pour le cancer du côlon ou le CD 117 pour les tumeurs stromales gastro-intestinales (Hordé, 2014) (Figure 15).

- 1 - Antigène
- 2 - Anticorps 1
- 3 - Anticorps 2
- 4 - Complexe Avidine-biotine-péroxydase DAB



**Figure 15** : Schéma de la technique immunohistochimique  
(Pluot et al., 2006)

- Mode opératoire : Il comporte plusieurs étapes :
- ✚ Réalisation des coupes : les coupes tissulaires sont réalisées à l'aide de microtome dont l'épaisseur est de 3µm. Les rubans sont étalés dans un bain marie réglé à 49°C contenant de l'eau distillée et sont ensuite recueillis sur des lames silanisées préalablement numérotées. Le silane est à base d'acétone et d'alcool qui est une sorte de colle qui empêche le décollement des tissus lors de la préparation en créant des liaisons hydrophobes entre le tissu et la lame.
- ✚ Déparaffinage et Réhydratation : les lames sont mises dans l'étuve à 60°C pendant 3 minutes pour le déparaffinage, ensuite elles sont remises dans 4 bains de xylène pendant 5 minutes chacun pour éliminer toute trace de paraffine. Ce bain est suivi par 3 bains d'alcool à concentration décroissante 100%, 90% et 70% pendant 5 minutes



chacun. A la fin, les lames sont placées dans l'eau distillée pendant 15 à 20 minutes pour faire le blanchissement.

- ✚ Démasquage antigénique : son but est d'augmenter l'affinité de l'anticorps envers son antigène. En immergeant les lames (béta catenine ou Ag hépatocytaire) dans une solution aqueuse PH 9 et les incubées à 95°C pendant 40 minutes. Alors que les lames de l'alpha FP restent sans prés traitement.

Après la sortie des lames de l'incubateur et le refroidissement sur la paillasse pendant 20 minutes, ces lames sont plongées dans deux bains d'eau distillée 5 minutes chacun. Les lames sont lavées dans du tampon salin (TBS =Tris Buffered Saline) pendant 5 minutes.

Immunomarquage : l'immunomarquage est une étape qui sert à marquer un antigène recherché par l'utilisation d'un anticorps primaire dirigé contre cet antigène et un anticorps secondaire dirigé contre le premier anticorps et qui est couplé à un révélateur **(Pluot et al., 2006)**

- ✚ Les coupes sont cerclées avec un marqueur hydrophobe DAKO PEN afin que les anticorps restent concentrer sur l'échantillon en évitant la dispersion et la perte du réactif du fait que ce marqueur créé un milieu hydrophobe pour le réactif. Les peroxydases endogènes sont bloquées avec une quantité suffisante d'eau oxygénée (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) qui recouvre le tissu pendant 5 minutes afin de libérer les sites antigéniques (minimiser le bruit de fond due au peroxydase et à la liaison aux protéine non spécifiques).

Après rinçage à l'eau distillée, les lames sont misent en présence d'un 1<sup>er</sup> anticorps (B-catenine, Alpha FP, Ag hépatocytaire ) pendant 30 minutes à 4 C° suivie d'un rinçage dans le tampon TBS deux fois pendant 2-5 minutes. Puis elles sont incubées pendant 1 heure à 4 C° en présence d'un 2<sup>ème</sup> anticorps HRP (horseradish peroxidase) puis rincées au TBS.

- ✚ Révélation : la révélation permet la mise en évidence du marquage par une coloration marron. Nous appliquons quelques gouttes de la solution DAB (Avidine-biotine-péroxydase) plus le chromogène (substrat tampon 1ml+ 20 gouttes de chromogène) pendant 30 minutes sur les coupes.

- ✚ Contre coloration et montage : la contre coloration sert à mettre en évidence les noyaux en leur donnant une coloration bleue par émergence des lames dans une solution d'hématoxyline de Mayer pendant 5 minutes puis les lames sont parfaitement

rincées dans un bain d'eau courante puis trempées dans un bain d'ammoniaque afin d'éliminer l'excès de l'hématoxyline. Les lames sont finalement rincées avec de l'eau distillée puis bien séchées avant de pratiquer le montage avec l'Eukitt Faramount.

- ✚ Interprétation : étude de l'intensité de la localisation immunohistochimique sous le microscope photonique . L'intensité de la coloration, allant du beige clair au brun foncé, a été évaluée comme indicateur de l'expression de la b-catenine, Ag hépatocytaire, Alpha FP.

# *Chapitre III*

## **Résultats et discussions**

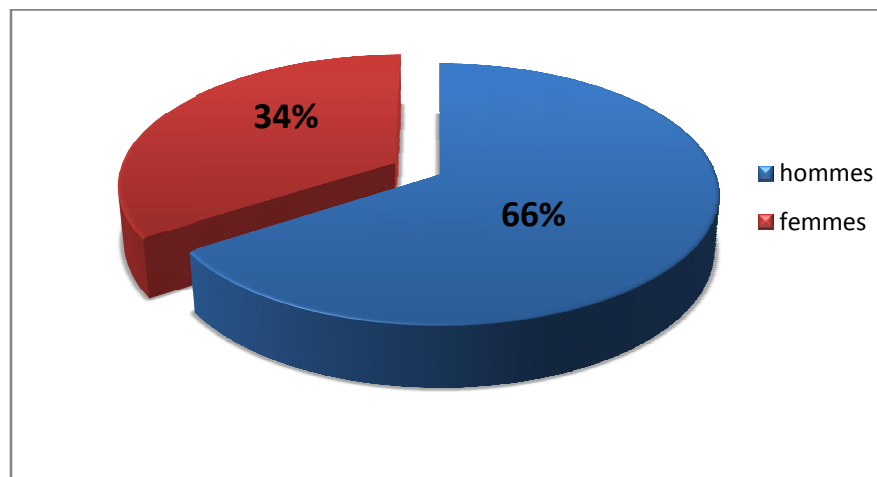
### III.1.RESULTATS

#### III.1.1. Résultats de l'étude rétrospective

Cette étude est réalisée sur 35 cas atteints de carcinome hépatocellulaire selon les fiches des malades et l'utilisation des blocs de paraffine archivés.

##### III.1.1.1 Répartition des cas de carcinome hépatocellulaire selon le sexe

La répartition de nos patients selon le sexe présente une prédominance masculine avec un sex-ratio homme/femme est de 1,9. Le CHC est plus fréquent chez les hommes (n=23 correspond à 66%) que chez les femmes que chez les femmes (n= 12 correspond à 34%) (Figure 16 et tableau 5 annexe 2).

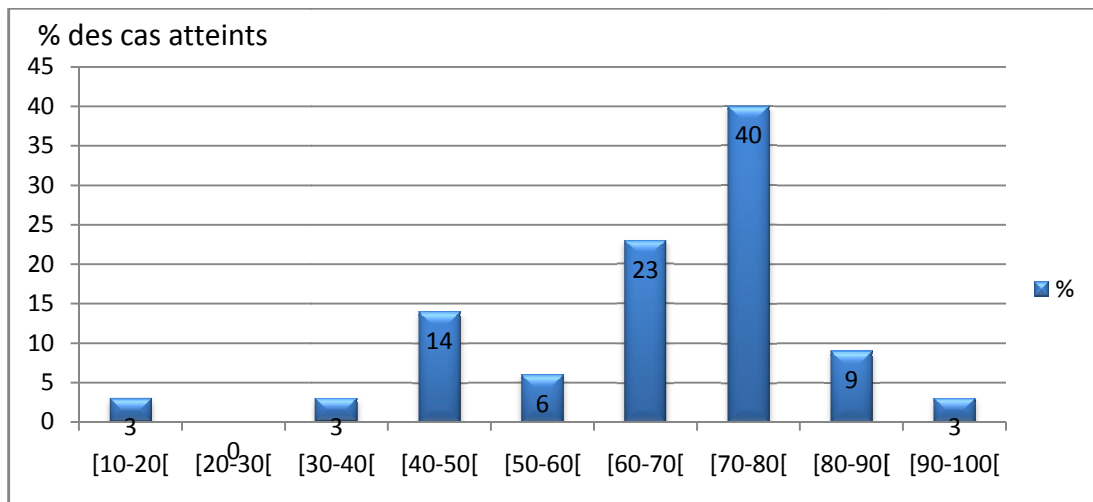


**Figure 16:** Répartition des cas de carcinome hépatocellulaire selon le sexe.

##### III.1.1.2. Répartition des cas de carcinome hépatocellulaire selon la tranche d'âge

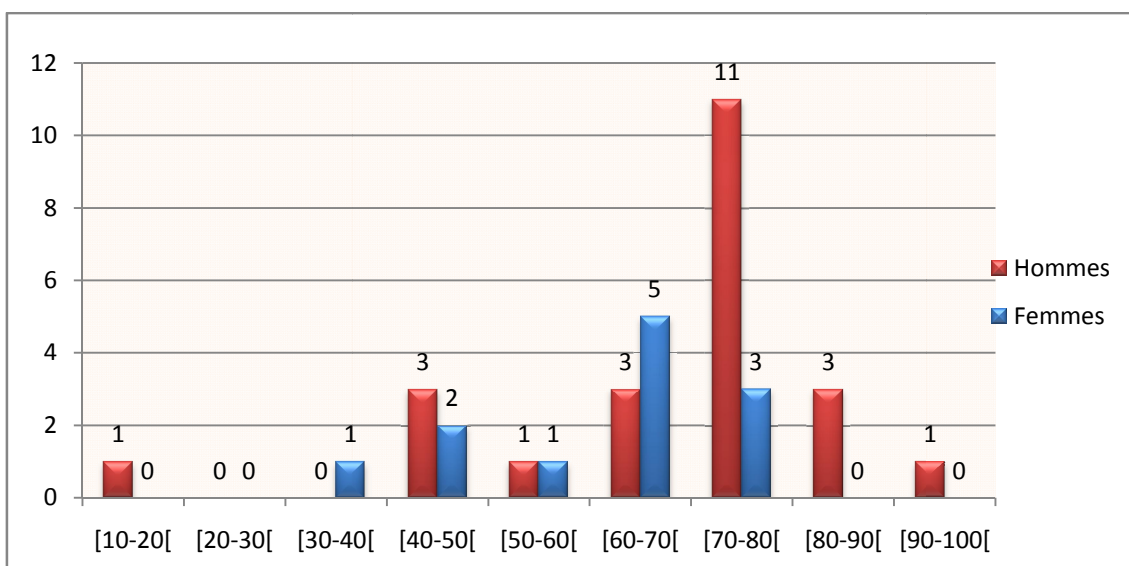
Selon les résultats obtenus (Figure 17 et tableaux 6.de l'annexe 2), la tranche d'âge la plus atteinte de CHC se situe entre 70 et 79 ans, tout sexe confondu, avec un pourcentage de 40 % et des extrêmes allant de 19 à 98 ans.

L'âge moyen au diagnostic de CHC est de 68,47 ans chez l'homme avec des extrêmes de 19 à 89 ans et de 60,83 ans chez les femmes avec des extrêmes de 32 à 85 ans (tableau 7 annexe 2).



**Figure 17:** Répartition des cas de carcinome hépatocellulaire en fonction de tranche d'âge.

La recherche de la corrélation entre le sexe et la tranche d'âge a donné les résultats suivants (Figure18).



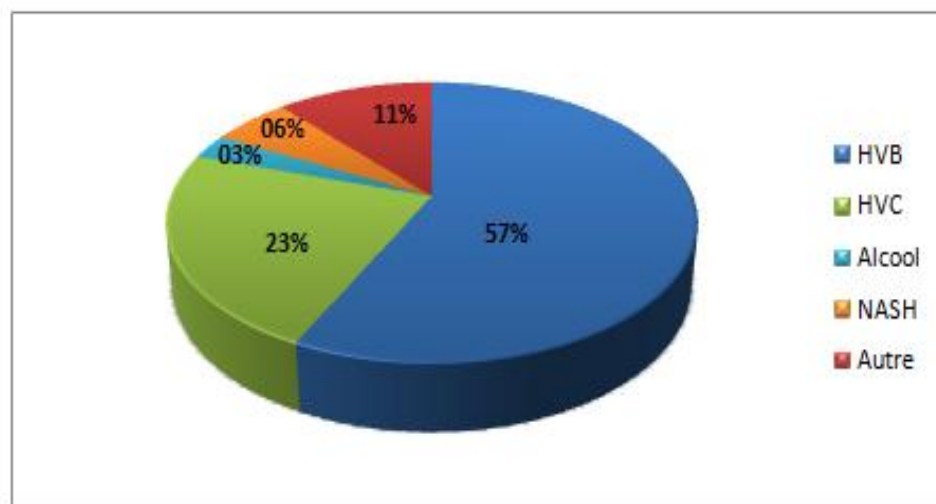
**Figure 18:** Résultats de la corrélation entre le sexe et la tranche d'âge des cas de carcinome hépatocellulaire.

Les patients de la tranche d'âge [70-80[ans qui est la plus touchée par le CHC sont des hommes alors les femmes de la tranche d'âge [60-69] sont les plus touchées par cette maladie.

#### III.1.1.3. Répartition des cas de carcinome hépatocellulaire selon les facteurs étiologiques

Dans notre étude, nous avons enregistré plusieurs facteurs étiologiques qui sont associés avec le CHC. Ces facteurs sont présentés comme suit :

- Une hépatite virale B chez 20 patients (57%),
- Une hépatite virale C chez 08 patients (23%),
- un seul cas alcoolique (03%),
- Une stéato-hépatite non alcoolique (NASH) chez 02 patients (06%)
- et d'autres facteurs tels que le tabagisme, l'hémochromatose et l'hépatite auto-immune chez 04 patients (11%) (Figure 19 et tableau 8.annexe 2).



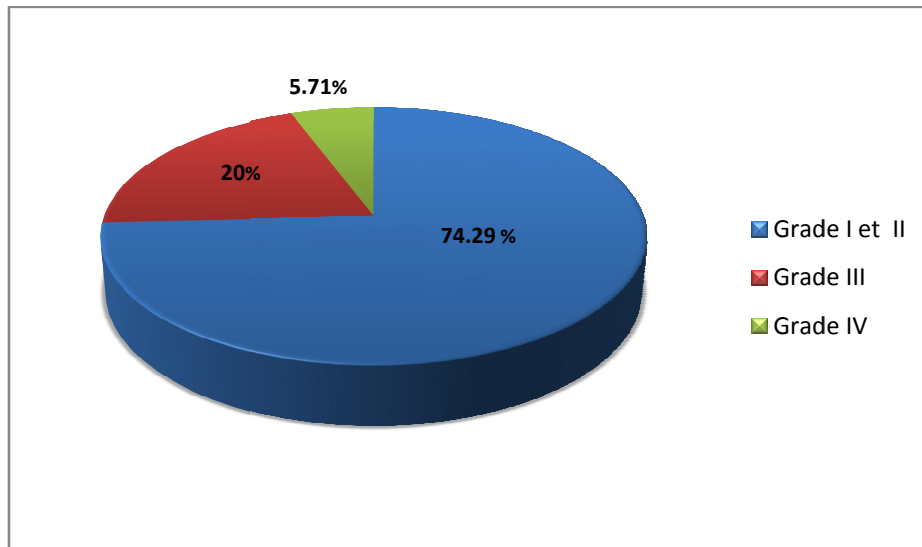
**Figure 19 : Répartition des cas de carcinome hépatocellulaire selon les facteurs étiologiques.**

#### III.1.1.4. Résultats de l'examen histopathologique

L'observation au microscope optique montre qu'il s'agit de 35 CHC classés selon le degré de différenciation en :

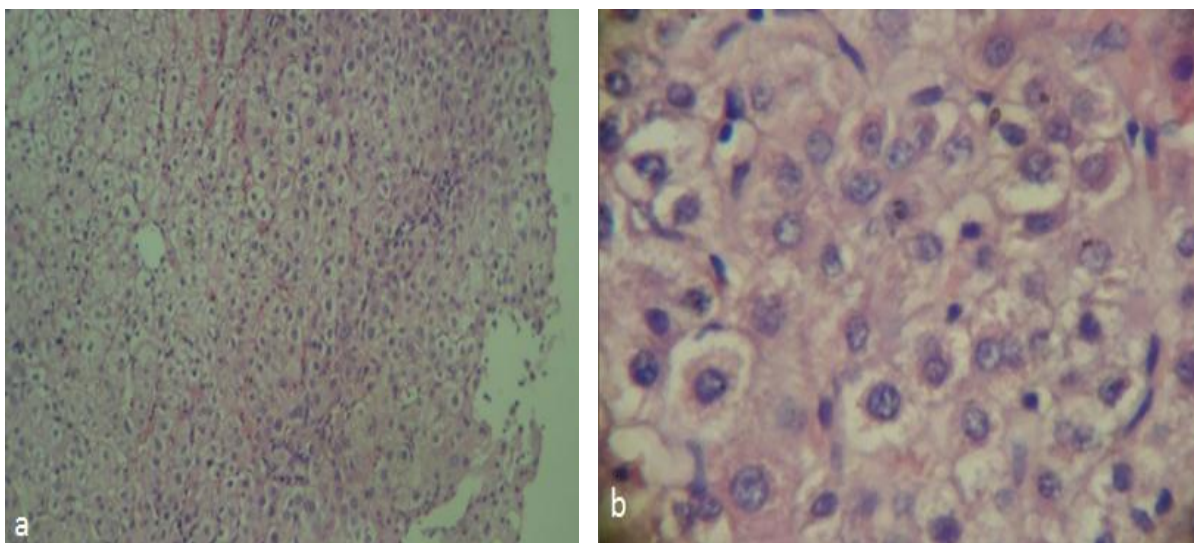
- ❖ CHC bien différencié (correspondant au grade I et II d'Edmonson et Steiner),
- ❖ CHC moyennement différencié (correspondant au grade III d'Edmonson et Steiner),
- ❖ CHC peu différencié (correspondant au grade IV d'Edmonson et Steiner).

L'analyse des résultats obtenus montre que le CHC bien différencié est plus fréquent (74,29%) par rapport au moyennement différencié (20%), suivi par le peu différencié (5,71%) (Figure 20 et Tableau 9 annexe 2).



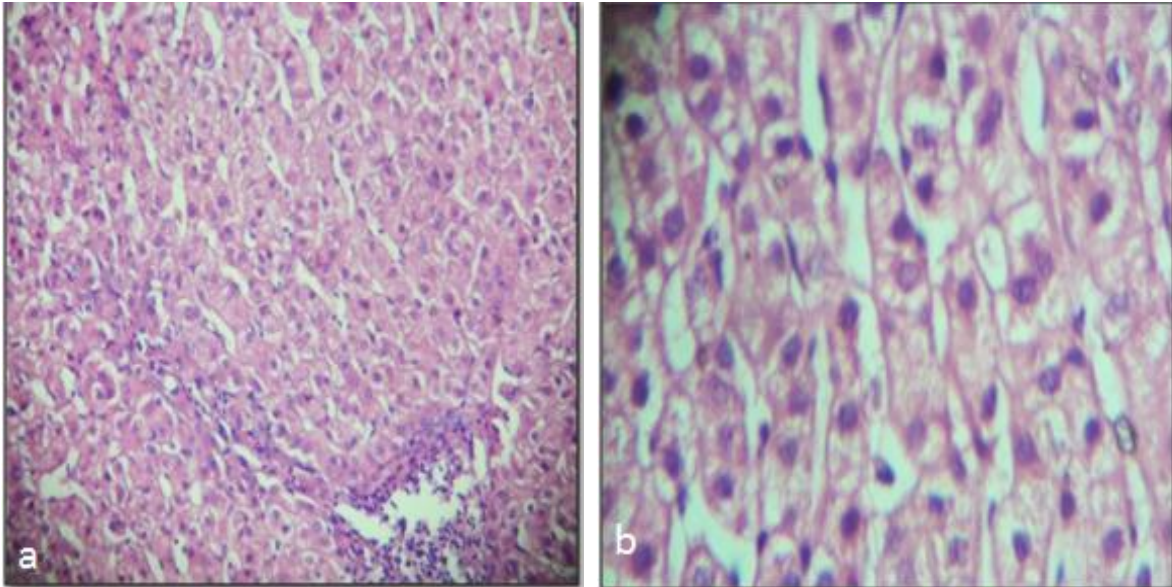
**Figure 20 :** Représentation des cas de carcinome hépatocellulaire selon le grade histologique.

Le CHC bien différencié (Grade I et II d’Edmonson et Steiner) présente une architecture trabéculée et pseudo-acineuse. Les cellules sont souvent de plus petite taille que les hépatocytes normaux avec un noyau parfois élargi, muni d’un petit nucléole. Nous notons la présence fréquente de dépôts biliaires au sein des structures pseudo-tubulées ou intracytoplasmiques (Figures 22, 23).



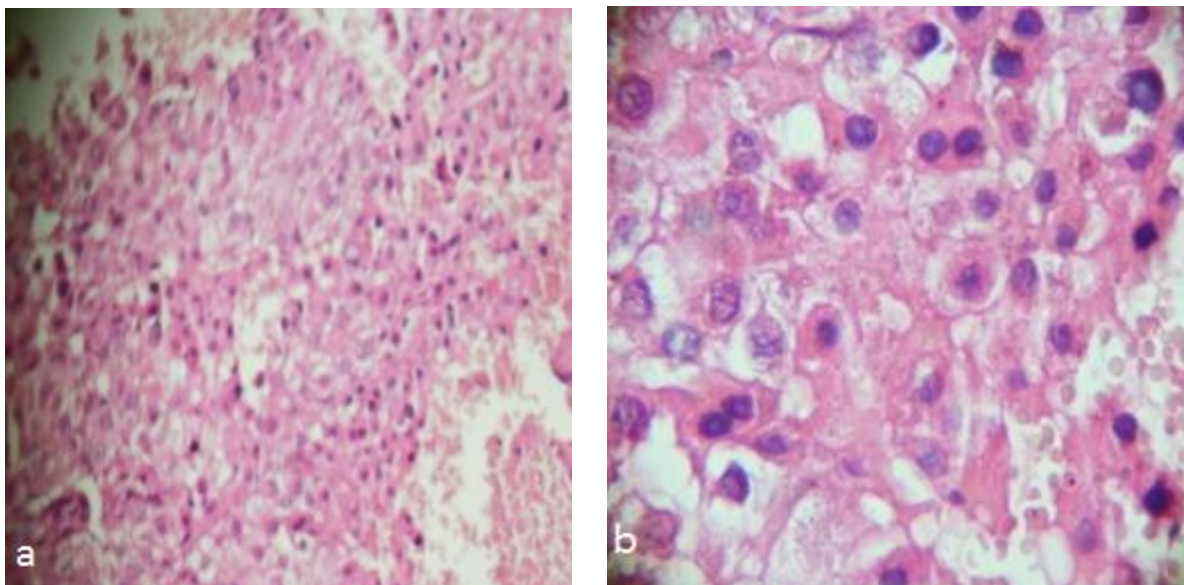
**Figure 21:** Structure d’un parenchyme hépatique bien différencié (témoin).

Coloration HE ;Gr : x100(a) et x400 (b).



**Figure 22** : Structure d'un CHC bien différencié de grade I.

Coloration HE ;Gr : x100(a) et x400 (b).

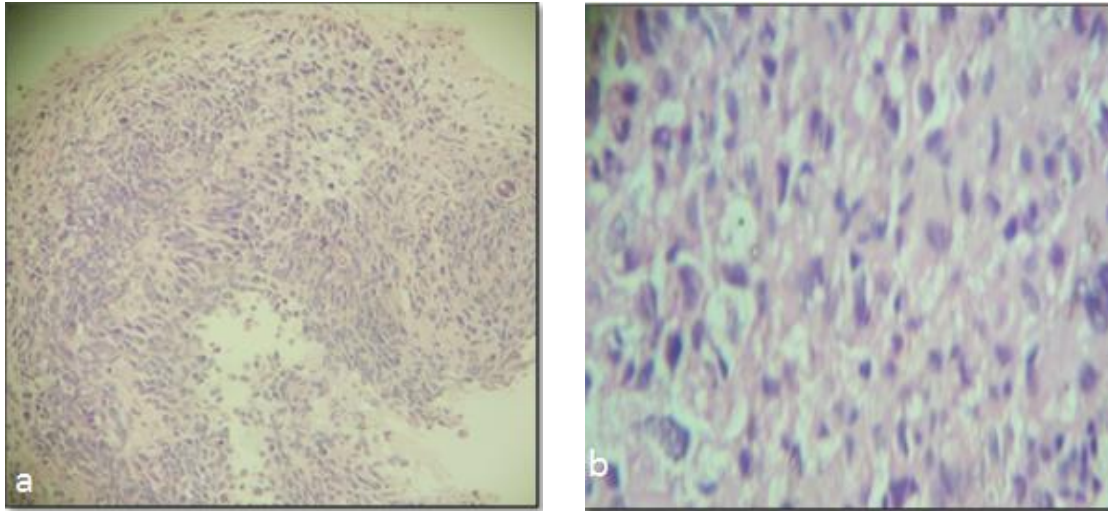


**Figure 23** : Structure d'un CHC bien différencié de grade II.

Coloration HE ;Gr : x100(a) et x400 (b).



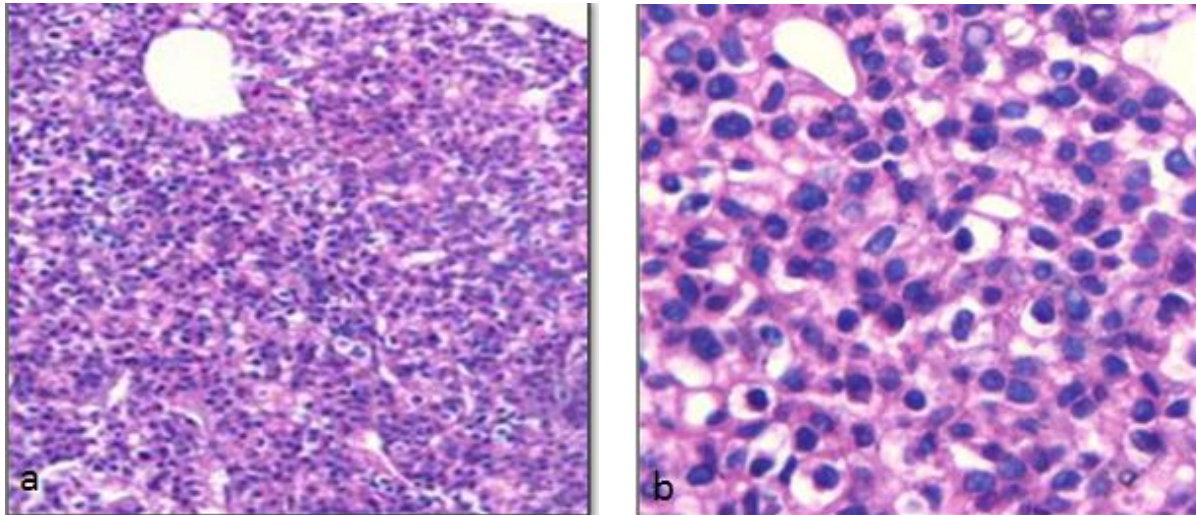
Le CHC moyennement différencié (Grade III d'Edmonson et Steiner) montre une architecture trabéculée avec une structure pseudo acineuse rare. Les cellules ont un noyau élargi comportant un nucléole proéminent (Figure 24).



**Figure 24** : Structure d'un CHC moyennement différencié de grade III.

Coloration HE ;Gr : x100(a) et x400 (b).

Le CHC peu différencié (Grade IV d'Edmonson et Steiner) présente une architecture trabéculée et massive. Les cellules tumorales peuvent présenter une inflexion fusiforme avec des atypies nucléaires marquées (irrégularité de la taille) et une forte activité mitotique (Figure 25).



**Figure 25 : Structure d'un CHC peu différencié de grade IV.**

**Coloration HE ;Gr : x100(a) et x400 (b).**

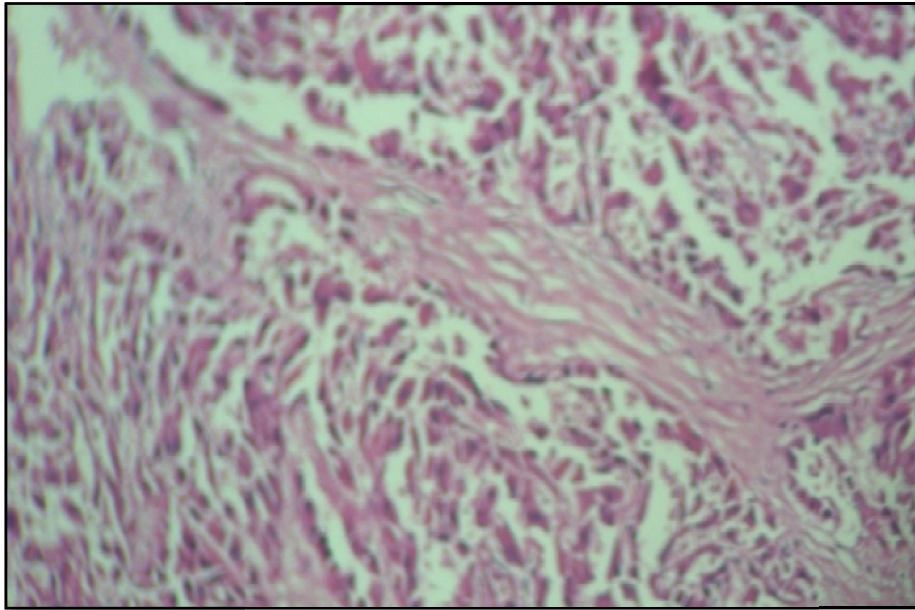
L'observation microscopique a permis aussi de révéler des types histologiques particuliers. Il existe deux variantes histologiques : deux cas de CHC fibrolamellaire et un cas de CHC à cellules claires. Ces variantes représentent 8,57 % de l'ensemble des CHC (Tableau 10 et Figures 26,27).

**Tableau 10: Variantes histologiques du CHC.**

Variante (types histologie)	N °de cas	Grade
CHC fibrolamellaire	02	II
CHC à cellules claires	01	II

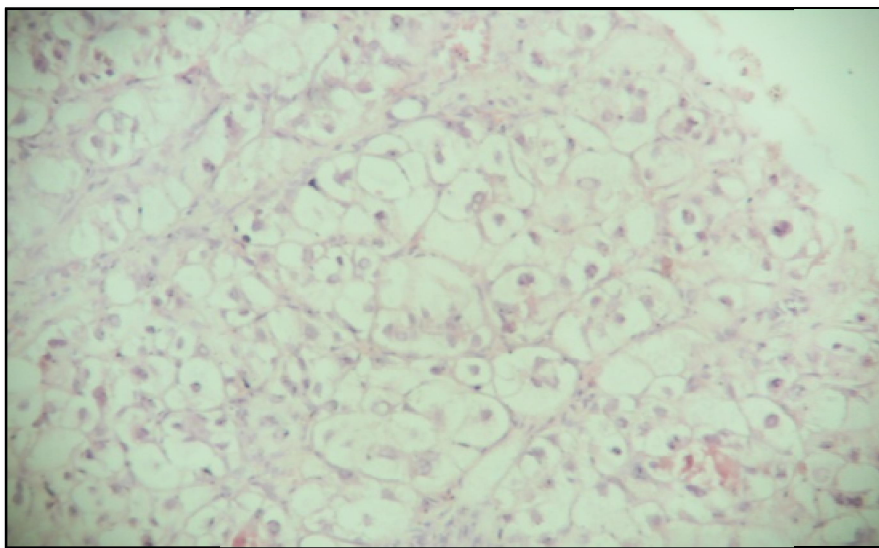
Le type fibrolamellaire présente une architecture trabéculée et pseudo-glandulaire avec un stroma fibreux, abondant, hyalinisé et lamellaire, comportant parfois des calcifications. Les cellules sont arrondies ou polygonales avec un cytoplasme éosinophile, granuleux et

d'allure oncocytaire. Le noyau souvent volumineux avec un nucléole proéminent, L'inclusion intracytoplasmique éosinophile et pales (présence d'amas de fibrinogène) (Figure 27).



**Figure 26 : Structure d'un carcinome hépatocellulaire fibrolamellaire.**  
**Coloration HE ; Gr : x 100.**

Avec le type à cellules claires, l'architecture est trabéculée. Les cellules tumorales ont un aspect clair par accumulation de glycogène ou de graisses dans le cytoplasme (Figure 28).



**Figure 27: Structure d'un carcinome hépatocellulaire à cellules claires.**  
**Coloration HE ; Gr : x 100.**

Les résultats de cette corrélation concernent 28 cas sur 35 vu l'absence des informations sur la taille des nodules et la nature de prélèvement de 7 patientes sur les fiches.

**Tableau 11** : Répartition des cas de CHC selon la taille des nodules et le grade histologique.

Taille des nodules	Grade I	Grade II	Grade III	Grade III	Total
	Bien différencié		Moyennement différencié	Peu différencié	
Nodules <3cm	15		2	0	(17) = 60,71%
Nodules >=3cm	4		5	2	(11) = 39,28%
Total	19		7	2	28

D'après les résultats de la corrélation entre la taille des nodules et le grade de différenciation histologique (**Tableau\_11**), nous constatons que la majorité des CHC Bien différenciés (Grades I et II) ont une taille inférieure à 3cm et la plupart des CHC moyennement différenciés (Grade III) ont une taille supérieure ou égale à 3cm. Nous notons aussi l'absence des cas de CHC peu différencié (Grade IV) dans les nodules ont une taille inférieure à 3cm.

### III.1.1.5. Résultats du marquage immunohistochimique

La technique immuno-histochimique est réalisée sur 12 cas de CHC après la lecture histopathologique. Le marquage intéresse trois molécules, la  $\beta$ -caténine, l'antigène hépatocytaire et l'alpha FP.

#### ➤ Immunomarquage de la $\beta$ - caténine

L'immunomarquage de la  $\beta$ - caténine est positif dans tout les cas de CHC. Ce qui montre une forte expression de la  $\beta$ - caténine dans les différents compartiments des cellules tumorales y compris la membrane, le cytoplasme et le noyau.

L'expression de la  $\beta$ -caténine est surtout retrouvée au niveau membranaire et diffère d'un cas à l'autre. Le grade histologique I révèle une forte expression membranaire tandis que le

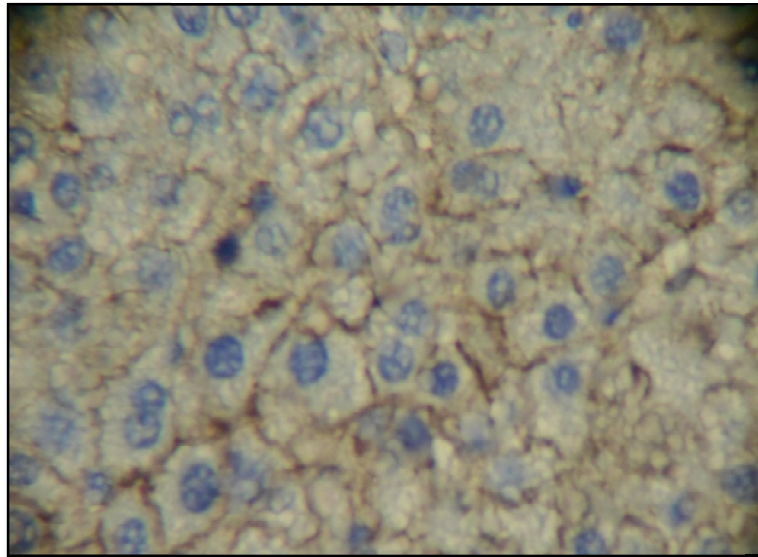
grade II présente une expression membranaire et cytoplasmique dans trois cas, membranaire dans deux autres cas. L’expression varie entre intense et modérée. Les trois cas de grade III, présentent une expression modérée au niveau du cytoplasme et de la membrane sauf un cas où l’expression est cytoplasmique. Le seul cas de CHC peu différenciés (grade IV) a présenté une intense expression nucléaire et cytoplasmique. L’immunomarquage est faible dans le carcinome fibrolamellaire à cellules claires (Tableau 12 et Figures 28 jus qu’à 33).

**Tableau 12 :Taux et localisation d’expression de  $\beta$ -catenine en fonction du grade histologique.**

Nombre	Témoin de la $\beta$ - catenine	$\beta$ -catenine		Grade histologique
		Localisation cellulaire	Taux d’expression	
1	<b>+++ Membranaire</b>	Membranaire	+++ diffuse	<b>I</b>
2		Membranaire Cytoplasmique	++ diffuse	<b>II</b>
3		Membranaire Cytoplasmique	+ ++diffuse	<b>II</b>
4		Membranaire	+++ diffuse	<b>II</b>
5		Membranaire	++ diffuse	<b>II</b>
6		Membranaire Cytoplasmique	+ + diffuse	<b>II</b>
7		Cytoplasmique Membranaire	++diffuse	<b>III</b>
8		Cytoplasmique	+ +diffuse	<b>III</b>
9		Cytoplasmique	++ diffuse	<b>III</b>
10		Nucléaire Cytoplasmique	+++ diffuse	<b>IV</b>

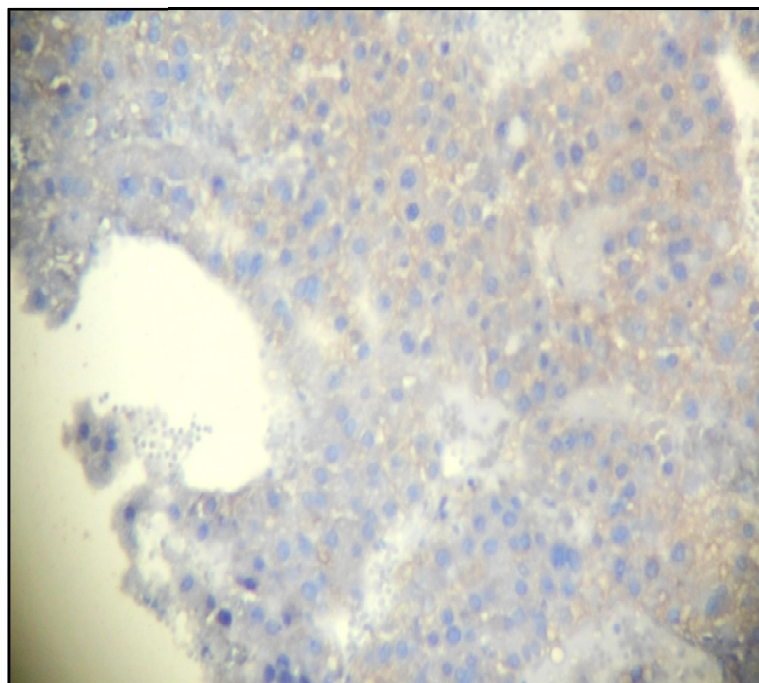
<b>11</b>		Membranaire	+ diffuse	<b>II</b>
		Cytoplasmique		<b>(fibrolamellaire)</b>
<b>12</b>		Membranaire	+ diffuse	<b>II (à cellules claires)</b>
		Cytoplasmique		

(+) faible expression (1-29%), (++) expression modérée (30-69%), (+++) intense expression (70-100%).

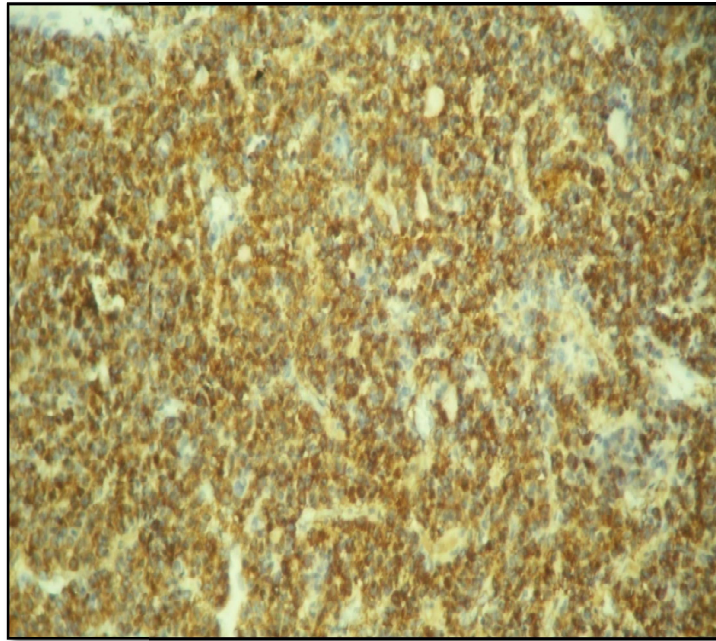


**Figure 28:** Expression membranaire de la  $\beta$ -caténine dans les cellules saines (témoin).

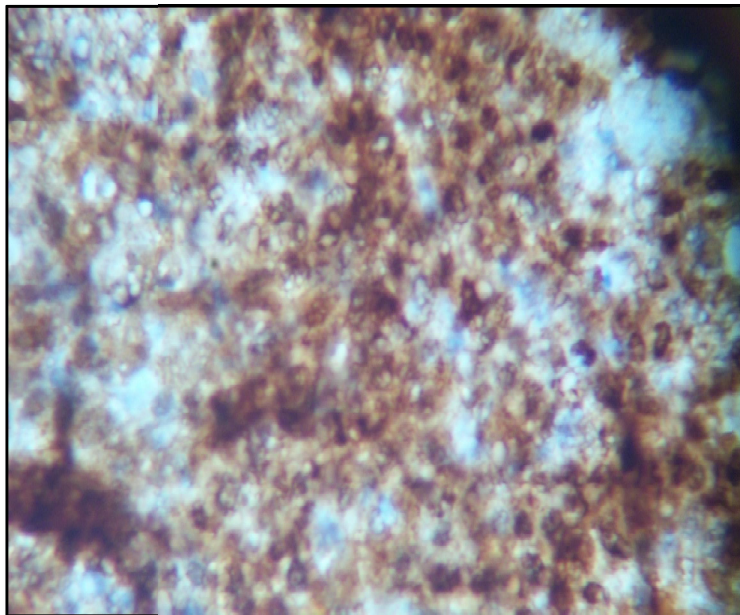
Gr : x 400.



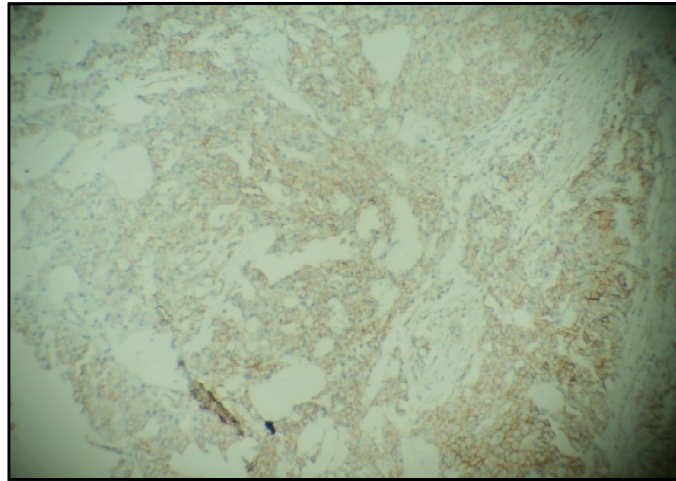
**Figure 29:** Immunomarquage cytoplasmique intense de la  $\beta$ -caténine dans le CHC bien différencié. Gr : x 400.



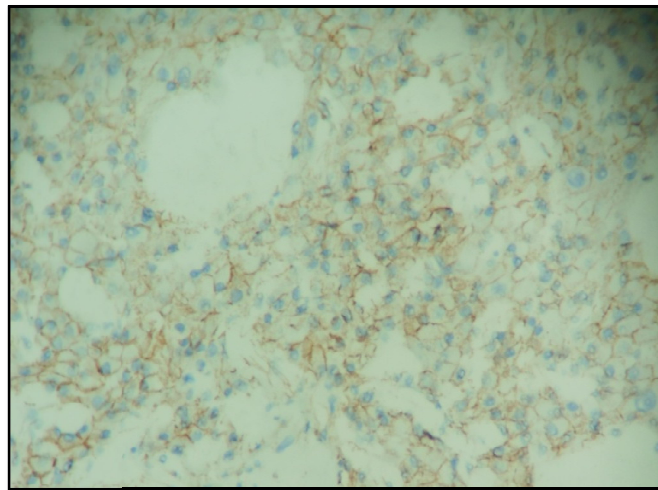
**Figure 30:** Immunomarquage membranaire et cytoplasmique modéré de la  $\beta$ -caténine dans le CHC grade III. Gr : x 400.



**Figure 31:** Immunomarquage nucléaire et cytoplasmique intense de la  $\beta$ -caténine dans le CHC de grade IV. Gr : x 400.



**Figure 32 :** Immunomarquage cytoplasmique et membranaire faible de la  $\beta$ -caténine dans le CHC fibrolamellaire. Gr : x 100.



**Figure 33:** Immunomarquage cytoplasmique et membranaire faible de la  $\beta$ -caténine dans le CHC à cellules claires. Gr : x 100.

➤ Immunomarquage cytoplasmique de l'ag hépatocytaire et l'alpha FP

Les résultats de l'immunomarquage des deux molécules sont représentés dans le (tableau 12 et les figure 36 jusqu' à 47). Les résultats confirment la présence de l'expression de l'Ag hépatocytaire et de l'alpha FP dans 12 cas de CHC. Il confirme la présence d'une corrélation entre l'expression des marqueurs cytoplasmiques Ag hépatocytaire et l'alpha FP et leurs grades de différenciation histologique. La majorité des CHC bien différenciés (Grade I et II) ont une expression intense et diffuse d'Ag hépatocytaire et une expression faible et focale avec l'alpha FP.



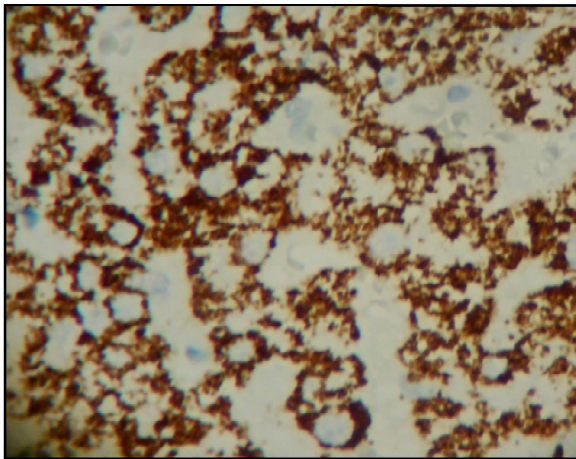
Dans le cas de CHC moyennement différencié (Grade III), l'expression est modérée et diffuse avec les deux marqueurs cytoplasmiques. Le CHC peu différencié (Grade IV) présente une expression faible et focale avec l'Ag hépatocytaire et une expression intense et diffuse avec l'alpha FP. En cas des variantes histologiques, les CHC Fibrolamellaire et à cellules claires présentent une expression intense et diffuse avec les deux marqueurs.

**Tableau 13 :** Expression du Ag hépatocytaire et Alpha FP en fonction du grade histologique du carcinome hépatocytaire.

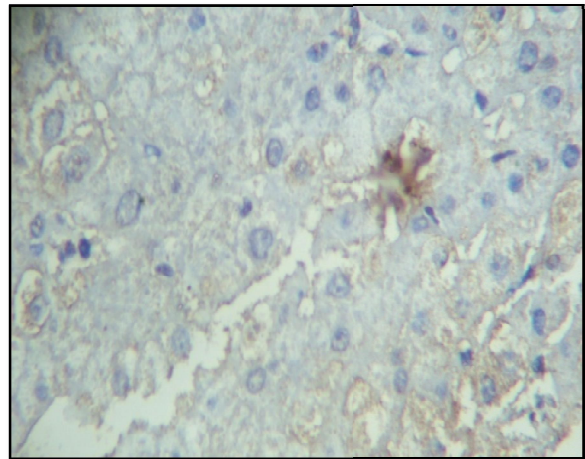
Nombre	Témoin d'Ag hépatocytaire	Expression d'Ag H	Témoin d'Alpha FP	Expression d'Alpha FP	Grade
1	+++ <b>Cytoplasmique Granulaire</b>	+++ diffuse	+ <b>Cytoplasmique granulaire</b>	+ focale	<b>I</b>
2		+++ diffuse		+ focale	<b>II</b>
3		++ diffuse		+ diffuse	<b>II</b>
4		+++ diffuse		+ focale	<b>II</b>
5		+++ diffuse		+ focale	<b>II</b>
6		+++ diffuse		+ focale	<b>II</b>
7		++ diffuse		++ diffuse	<b>III</b>
8		++ diffuse		++ diffuse	<b>III</b>
9		++ diffuse		++ focale	<b>III</b>
10		+ focale		+++ diffuse	<b>IV</b>
11		+++ diffuse		+++ diffuse	<b>II</b> (Fibrolamellaire)
12		+++ diffuse		+++ diffuse	<b>II</b> (à cellules claires)

(+) faible expression (1-29%), (++) expression modérée (30-69%),

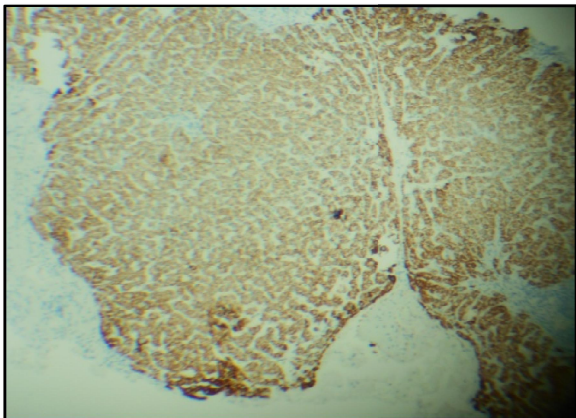
(+++) intense expression (70-100%).



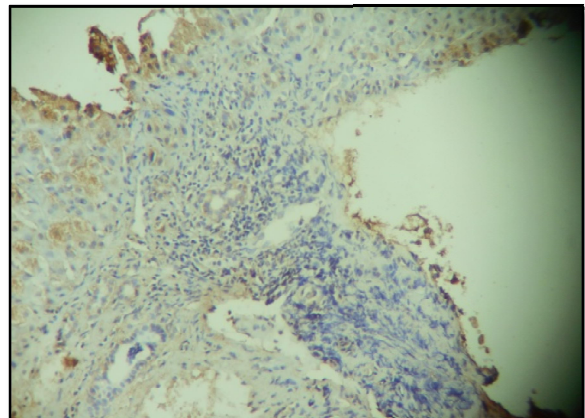
**Figure 34:** Expression cytoplasmique diffuse d'AgH (témoin). Gr : x400.



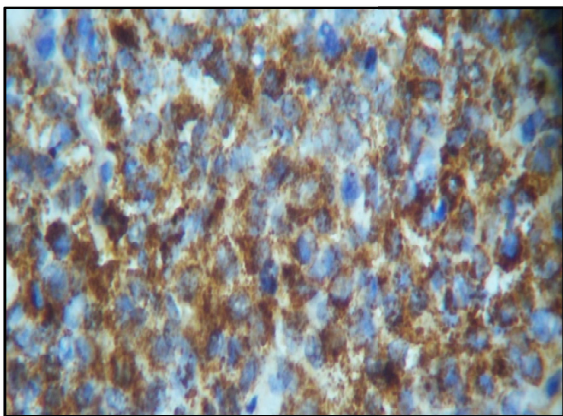
**Figure 35 :** expression cytoplasmique focale d'AFP (témoin). Gr : x400.



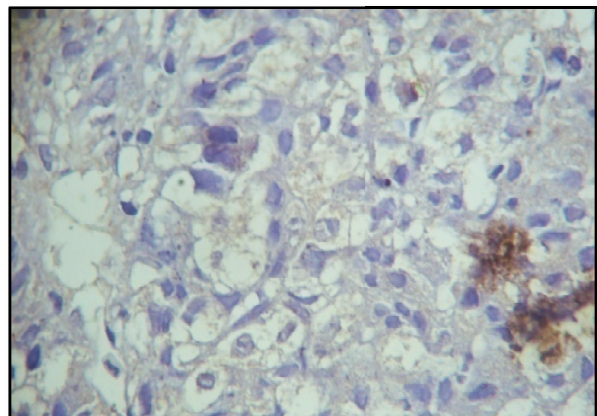
**Figure 36:** Expression cytoplasmique diffuse d'AgH avec le grade I. Gr : x100.



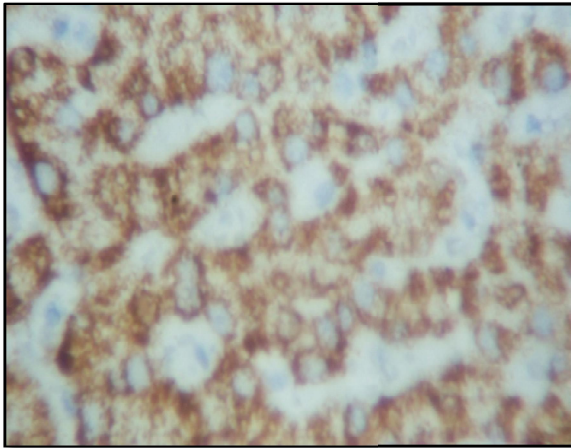
**Figure 37:** Expression cytoplasmique focale d'AFP avec le grade I. Gr : x100.



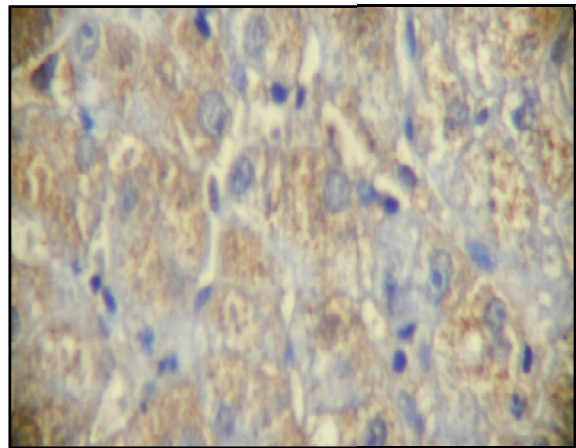
**Figure 38 :** Expression cytoplasmique diffuse d'AgH avec le grade II. Gr : x400.



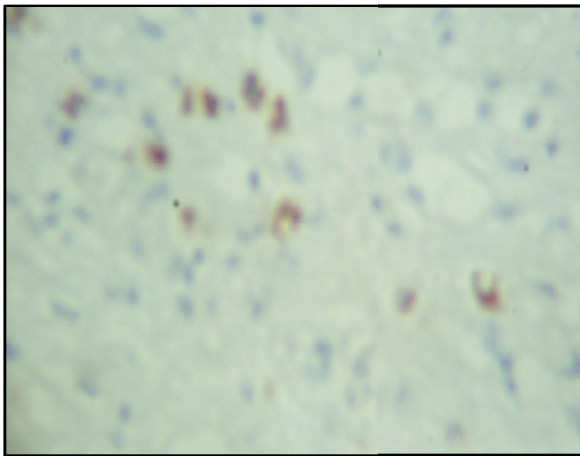
**Figure 39:** Expression cytoplasmique focale d'AFP avec le grade II. Gr : x400.



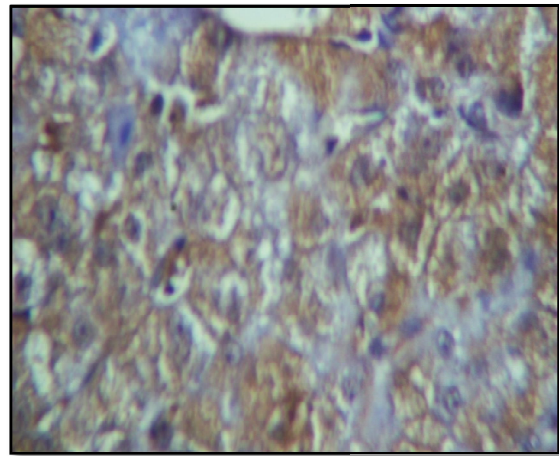
**Figure 40** : Expression cytoplasmique moyen d'AgH avec le grade III. Gr : x400.



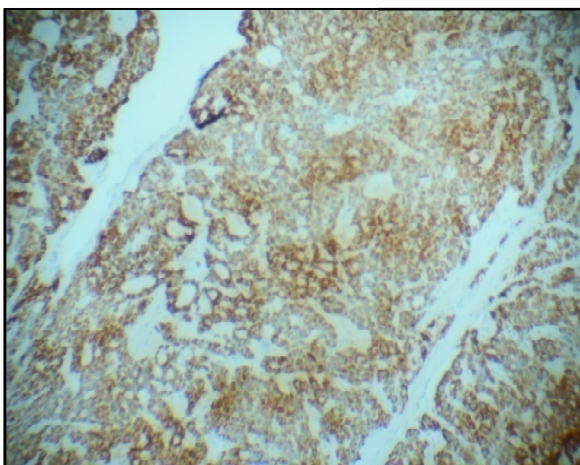
**Figure 41** : Expression cytoplasmique moyen d'AFP avec le grade III. Gr : x400.



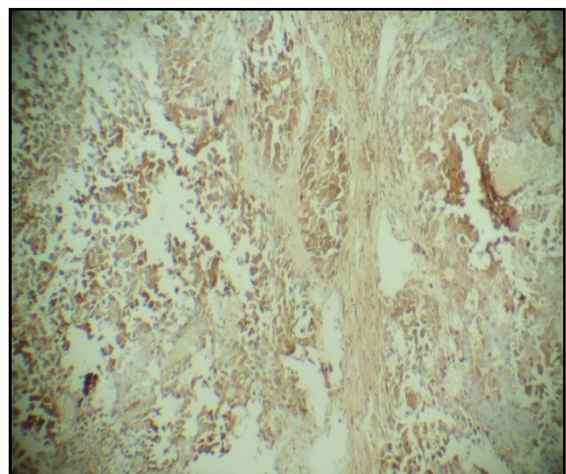
**Figure 42**: Expression cytoplasmique focale d'AgH avec le grade IV. Gr : x400.



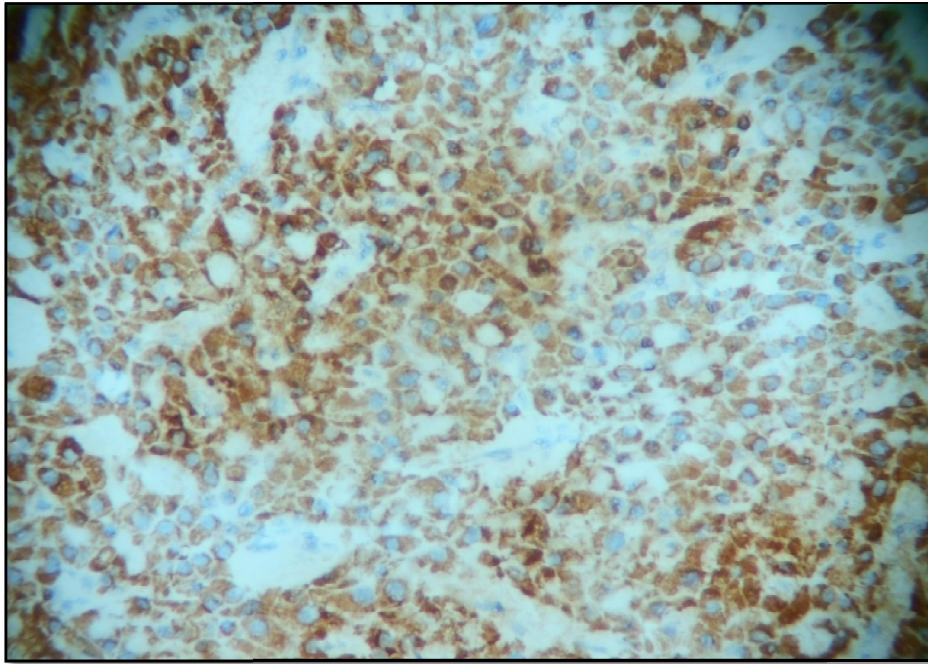
**Figure 43** : Expression cytoplasmique diffuse d'AFP avec le grade IV. Gr : x400.



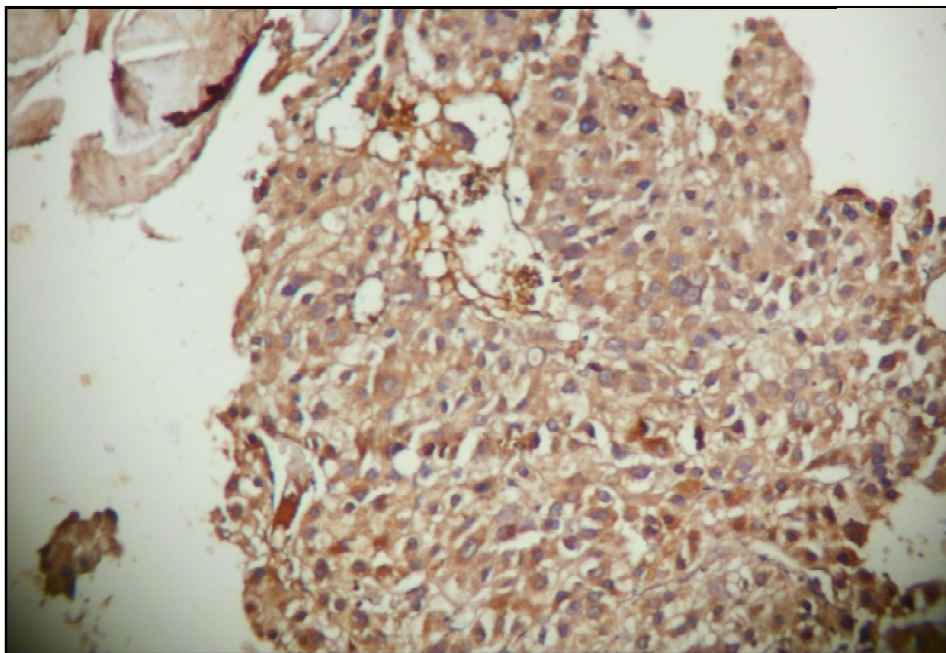
**Figure 44** : Expression cytoplasmique diffuse d'AgH avec CHC Fibrolamellaire. Gr : x400.



**Figure 45** : Expression cytoplasmique diffuse d'AFP avec CHC Fibrolamellaire. Gr : x400.



**Figure 46** : Expression cytoplasmique diffuse d'AgH avec CHC à cellules claires. Gr : x100.



**Figure 47** : Expression cytoplasmique diffuse d'AFP avec CHC à cellules claires.

Gr : x100

**III.1.2. Discussions**

Dans notre étude histologique portée sur 35 cas, classés selon la classification d'Edmonson, les CHC bien différenciés (Grade I et II) sont majoritaires et représentent 74,29 % de l'ensemble des CHC découverts le plus souvent à des stades précoces de la maladie et très rarement à des stades avancés. Les CHC moyennement différenciés (Grade III) représentent 20%, et les peu différenciés (Grade IV) représentent 5,71 % de l'ensemble des CHC. Les Grade III et IV sont rencontrés à des stades avancés de CHC, ceci est concorde avec les données de la littérature du Chikhi (2016) qui a constaté que la majorité des patients (73%) sont au grade bien différencié (grade I et II) et 26% des cas ont un type moyennement différencié et n'a enregistré aucun patient avec le CHC peu différencié (grade IV).

Le carcinome fibrolamellaire (FLC) est une variante du carcinome hépatocellulaire qui représente 1% à 9% de tous les CHC. C'est une tumeur maligne rare qui apparaît chez les patients jeunes (10 à 35 ans) sans maladie hépatique sous-jacente. Le carcinome fibrolamellaire a un meilleur pronostic que le CHC (Lafaro et *al.*, 2015). Les résultats de cette étude ressemblent à ceux retrouvés dans notre série dont nous avons trouvé deux cas de FLC (5,71%), le premier cas est un jeune homme âgé de 19 et le deuxième cas est une femme âgée de 35 ans.

Le carcinome à cellules claires est une variante du CHC qui se caractérise par un cytoplasme clair contenant du glycogène et de quantités variables de vésicules lipidiques. Une prédominance masculine est rapportée dans ce type particulier de CHC (Schlageter et *al.*, 2014). Ces résultats se rapprochent à celui retrouvé dans notre série, un seul cas de sexe masculin (2,85 %) avec un âge plus avancé (98 ans).

Les nodules de taille supérieure à 3 cm sont les plus fréquemment retrouvés avec 87,96% des cas et les nodules de taille inférieure à 3 cm sont moins fréquemment retrouvés 12,03% de cas (Kante et *al.*, 2013). Dans notre étude, nous avons découvert que les nodules de taille inférieure à 3 cm sont les plus fréquemment retrouvés avec 17 cas (60,71%) et les nodules de taille supérieure à 3 cm avec 11 cas soit 39,28%. Donc nos résultats opposent celles de Kante.

La  $\beta$ -caténine est une protéine essentielle impliquée à la fois dans l'activation transcriptionnelle via Wnt et dans l'adhésion cellule-cellule. La voie Wnt/ $\beta$ -caténine, très conservée au cours de l'évolution, intervient physiologiquement au cours de l'embryogenèse et dans le contrôle de la prolifération chez l'adulte (Cadigan et *al.*, 1997), mais aussi lors de processus oncogéniques dans lesquels elle est dérégulée (Grigoletto, 2012). Dans les cellules normales la  $\beta$ -caténine est positive en intracytoplasmique. Sa détection en intranucléaire est

synonyme de mutation. Des études récentes ont prouvé que l'accumulation de la  $\beta$ -caténine en intracytoplasmique et nucléaire est associée à la perte d'adhérence, transformation maligne et à la prolifération non réprimée (Saegusa *et al.*, 2001).

Dans notre étude, nous avons étudié le taux et la localisation de la  $\beta$ -caténine par IHC chez 12 patients atteints de CHC. Le type de marquage membranaire cytoplasmique nucléaire est précisé dans chaque cas. Nos résultats présentent un marquage positif de la  $\beta$ -caténine dans 12 cas (100%) avec une expression variable entre diffuse intense, modérée, et faible .

Dans les cas du CHC bien différencié, le marquage était majoritairement membranaire, d'intensité modérée à marquée. Cela est expliqué par le fait que la  $\beta$ -caténine est exprimée à l'état physiologique au niveau membranaire jouant un rôle dans l'adhésion cellulaire. Dans les cas du CHC moyennement différenciés (grade III), l'expression est majoritairement cytoplasmique d'intensité modérée. Cependant, l'expression de cette  $\beta$ -caténine sur les cas du CHC peu différenciés est cytoplasmique et nucléaire suggérant ainsi une accumulation nucléaire de cette protéine par mutation. Ces résultats sont proches de ceux de la littérature (Saffroy *et al.*, 2004). Ces derniers ont montré une accumulation nucléaire par la sur expression de la protéine  $\beta$ -caténine dans les CHC de haut grade (grade IV). L'étude de Rogacki *et al.* (2015) montre que la localisation nucléaire de la protéine est la plus souvent liée aux mutations somatiques de la  $\beta$ -caténine et le degré histologique de malignité (CHC peu différencié).

Les résultats de l'étude comparative réalisée entre l'expression de l'antigène hépatocytaire et l'alpha-foetoprotéine et leurs grades histologiques montrent que l'expression de l'Ag hépatocytaire est intense et diffuse dans les CHC bien différenciés (grade I, II). Ce marquage ressemble à celui des hépatocytes normaux d'où la difficulté de les distinguer des cellules cancéreuses ce qui signifie que la mutation de la protéine n'est pas encore apparue. Cependant les CHC peu différenciés (grade IV) montrent une faible expression focale liée à la perte de l'Ag hépatocytaire au niveau de ces cellules tumorales causée par l'accumulation des mutations.

L'expression de l'alpha-foetoprotéine est faible et focale dans les CHC bien différenciés (grade I et II) et intense et diffuse dans les CHC peu différenciés (grade IV). Bien que l'Alpha-foetoprotéine est exprimée dans le foie fœtal, il n'est pas normalement exprimé dans le tissu adulte. Son expression a été détectée dans les CHC par mutation de son gène.

Toute fois, l'intérêt diagnostique de ces deux protéines réside dans la corrélation entre leur expression et leur grade de différenciation. L'Alpha-foetoprotéine serait utilisée dans le diagnostic des CHC de haut grade (IV) alors que l'Ag hépatocytaire serait utilisée dans le diagnostic des CHC du bas grade (I et II).

*Références*  
*bibliographique*



### REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

Audureau D. (2011). Enjeux économiques et choix stratégiques dans l'utilisation de thérapies innovantes à l'hôpital Application au traitement de l'hépatocarcinome par chimio-embolisation , Université de Nantes , Faculté de pharmacie pp:28-31.

Benhamou JP ; Erlinger S. (2008). Maladie du foie et des voies biliaires 5ème édition. Paris : Flammarion médecine science, p220.

Blanc J.F. (2017). Hepatocellular Carcinoma: Epidemiological News and the Diagnostic Process. *Oncologie*. **19**.pp:135-143.

Cadigan K.M., Nusse R. (1997). Wnt signaling : a common theme in animal development. *GenesDev* **11**.pp:305-3286.

Cambus J.P. (2002). Physiologie de l'hémostase. Module Cardiovasculaire PCEM IIRanueil. pp:3.

Chan J., Ko F.C., Yeung Y.S., Ng I.O., Yam J.W., (2011). Integrin-linked kinase over expression and its oncogenic role in promoting tumorigenicity of hepatocellular carcinoma. *PLoS One* 6(2):e16984 .

Chikhi Y. (2016). Carcinomes hépatocellulaires caractéristiques anatomo-cliniques et évolutives. Faculté de médecine d'Alger. pp:157-165.

Chu PG et al. *Am J Surg Pathol*. 2002 Aug;**26**(8):978-88.

Chu P.G., Ishizawa S, Wu E, Weiss LM. (2002). [Hepatocyte antigen as a marker of hepatocellular carcinoma: an immunohistochemical comparison to carcinoembryonic antigen, CD10, and alpha-fetoprotein.](#) *Am J Surg Pathol* Aug;**26**(8):978-88.

Counand C. (2004 ). Le foie : Etudes anatomiques et chirurgicales. Paris : Masson.

Colnot S., Decaens T., Perret C. (2005). Activer un signal beta-caténine dans le foie est oncogénique. *medecine/sciences, EDP Sciences*. **21**(4).pp:7-355.

Desbene C., Gaillard o., (2013). Immunoanalytical characteristics of alpha foetoprotein. *Immuno-analyse et biologie spécialisée*. 28pp.: 158 165.

Dufour M. (2016). Foie. *Kinesither Rev* **16**.pp:24-25.

Eguether T. (2010). Role de la protéine beta caténine dans la prolifération du lignage mélanocytaire. Université Nancy I-Henri Poincaré. pp:72.

## *Références bibliographique*

---

- El-Serag HB. (2011). Hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med* **365**.pp:1118-1127.
- El-Serag H.B., Kanwal F. (2014). Epidemiology of Hepatocellular Carcinoma in the United States: Where Are We? Where Do We Go? *Hepatology* 2014 November ; **60**(5): 1767–1775.
- Ganne-carrie N., Mohand D., N'kontchou G., Grando-lemaire V., Trinchet J.C., (2002). Diagnostic et traitement du carcinome hépatocellulaire chez les patients atteints de cirrhose. *Gastroenterol. Clin. Biol* **26**. pp:73-77.
- Guichard C., Amaddeo G., Imbeaud S., et al., (2012). Interated analysis of somatic mutations and focal copy-number changes identifies Key genes and pathways in hepatocellularcarcinoma. *Nat Genet* **44**(6). pp:8-694.
- Grigoletto A. (2012). Rôle de la Reptine dans le carcinome hépatocellulaire. Ecole doctorale N°1946.pp:16-17.
- Hordé P. (2014). Immunohistochimie – Définition. *Sante-Médecine*. pp:1-2.
- Huber A.H., Weis W.I. (2001). The structure of the B-catenine /Ecadhérin Complex and the molecular.bases of divers lign Recognition by B- catenin. *cell* **105**.pp:391-402.
- Jacobs, F., Wisse, E., Geest B. (2010)The Role of Liver Sinusoidal Cells in Hepatocyte - Directed Gene Transfer. *Am J Pathol.* **176**.pp:14-21.
- Kante S . (2013) aspects echographiques du chc dans le service de radiologie et de medecine et nucleaire du point g de 1998-2000 et 2005-2008. Faculté de médecine, et d'odontostomatologie de Bamako pp:45.
- Karrar A., Broome U., Uzunel M., Qureshi A.R., Sumitran-Holgersson S., (2007). Human Liver Sinusoidal Endothelial Cells Induce Apoptosis in Activated T Cells: A Role in Tolerance Induction. *Gut*, **56**pp:243-252.
- Lafaro K.J., Pawlik T.M., (2015). Fibrolamellar hepatocellular carcinoma: current clinical perspectives. [J Hepatocell Carcinom.](#) **2**.pp:151-157.
- Lapierr P., Alvarez F. (2007). Le foie : un organe du système immunitaire?. *Medecine/Sciences* **23**(11).pp:986.
- Lau S.K, Prakash S, Geller SA, Alsabeh R. (2002). Comparative immunohistochemical profile of hepatocellular carcinoma, cholangiocarcinoma, and metastatic adenocarcinoma. *Hum Pathol.* **33**(12).pp:1175-1181.
- Laurent-Puig P., Zucman-Rossi J. (2006). Genetics of hepatocellular tumors. *25*(27). *Oncogene* pp:3778-3786.
- Li Zhao H., Zhang X., Wood L. D., Anders,R. A., Choti M. A., et al. (2011). Inactivating mutations of the chromatin remodeling gene ARID2 in hepatocellular carcinoma.*Nat Genet*, **43**(9).pp:828- 829.

## Références bibliographique

---

- Lovet JM., Bruix J. (2003). Systematic review of randomized trials for unresectable hepatocellular carcinoma : chemoembolization improves survival . *Hepatology*. **37**.pp:429-42.
- Maen D., Abou Ziki., Arya M. (2017). Wnt signaling, a novel pathway regulating blood pressure? State of the art review. *262*. pp:171-178..
- Maillard E. (2011). Epidemiology, natural history and pathogenesis of hepatocellular carcinoma. *Cancer/Radiothérapie* **15**.pp:3-6.
- Mittal S., El Serag HB . (2013). Epidemiology of HCC: Consider the Population. *J Clin Gastroenterol* **47**.pp:2-6.
- Moro A., Jiang J., Gigou M., Feray C. (2002). Carcinogénèse hépatique et virus de l'hépatite C. *Medecine/Sciences* **18**.pp:42-335.
- Martoja, R., Martoja, M. (1967). Initiation aux techniques de l'histologie animale. Ed. Masson, Paris. pp:345.
- Monge M. (2006). Cancérologie et biologie (marqueurs tumoraux orange par organe ). Elsevier SAS pp:313.
- Nakagawa H., Maeda S. (2012). Molecular mechanisms of liver injury and hepatocarcinogenesis: focusing on the role of stress-activated MAPK. *Patholog Res Int* **2012** (2012).pp:14.
- Nault J.C., Zucman-Rossi J. (2011). Genetics of hepatobiliary carcinogenesis. *Semin Liver Dis* **1**(2).pp:173-187.
- Netter F.H. (2004). Atlas d'anatomie humaine. 3eme edition Paris :Masson. pp:542.
- Nguyen S., Balian A. et al. (2003). Hépatogastro-entérologie. Elsevier Masson. pp:462.
- Ntagirabiri R., Munezero B., Kaze H., Ndirahisha E., Manirakiza S. ( 2015). Incidence du carcinome hépatocellulaire lors de l'infection chronique par le virus de l'hépatite B. *Pan African Medical Journal*. **20**.pp:167.
- Nusse R., Clevers H. (2017). Wnt/b-Catenin Signaling, Disease, and Emerging Therapeutic Modalities. *Cell* **169**.pp :990-991.
- Oliventi F. (2011). Epidemiology and survival of patients with HCC A. Single center cohort study , card Abstract pp:1. 98 XVII National congress of digestive and liver disease.
- Park J.W., [Chen M.](#), [Colombo M.](#), [Roberts LR.](#), [Schwartz M.](#), [Chen P.J.](#), [Kudo M.](#), [Johnson P.](#), [Wagner S.](#), [Orsini L.S.](#), [Sherman M](#) et al. (2015). Global patterns of hepatocellular carcinoma management from diagnosis to death . *Liver Int*. **35**(9). pp: 66-2155.
- Peifer M. (1997). Beta -catenin as oncogene : the smoking gun. *Science* **275**. pp:1752-1753.

## Références bibliographique

---

Pellanda H. (2012). Expression des enzymes de la reméthylation de l'homocystéine et effets épigénétiques de la mycotoxine FB1 (fumonisine) dans l'hépatocarcinome. Université de Lorraine. pp:91.

Pez F., Lopez A., Kim M., Wands J.R., Caron F.C., Merle P., (2013). Wnt signaling and hepatocarcinogenesis: molecular targets for the development of innovative anticancer drugs. *J Hepatol* **59**(5). pp:1107-1117.

Pilati C., Letouze E., Nault J. C., Imbeaud, S., Boulai A., Calderaro, J., et al., (2014). Genomic profiling of hepatocellular adenomas reveals recurrent FRK-activating mutations and the mechanisms of malignant transformation. *Cancer Cell*. **25**(4). pp:441-428.

Pluot M., Cahn V., Ducasse A. (2006). L'immunohistochimie en anatomie pathologique ophtalmologique : intérêt et limites. *J Fr Ophtalmol* **29**. pp:946-956.

Rogacki K., Kasprzak A., Stępiński A. (2015). Alterations of Wnt/b-catenin signaling pathway in hepatocellular carcinomas associated with hepatitis C virus. **66**(1). pp:9-21.

Rosa I., Denis J., Renard P., et al. (2010). Étude longitudinale descriptive de la prise en charge des CHC en France : CHANGH. Résultats préliminaires (résumé). *JFHOD*.

Saegusa M., Okayasu I. (2001). Fréquent nuclear beta-catenin accumulation and associated mutations in endometrioid-type endometrial and ovarian carcinomas with squamous differentiation. *J Pathol* **194**(1). pp:59-67.

Saffroy R., Pham P., Lemoine A., Debuire B. (2004). Biologie moléculaire et carcinome hépatocellulaire : données actuelles et développements futurs. *Ann Biol Clin* **62**. pp:56-649.

Said Y., Debbeche R., Ben ali Z, Bouzid K., Trabelsi S, Bouzaidi S., Salem M., Rajhi H., Chahed M, Taoufik Najjar T. (2012). aspects épidémiologiques, cliniques et thérapeutiques du carcinome hépatocellulaire chez le cirrhotique. *La Tunisie Médicale* **90**(6) pp:468 – 472.

Sakamoto M., Hirohashi S., Shimosato Y. (1991). Early stages of multistep hepatocarcinogenesis: adenomatous hyperplasia and early hepatocellular carcinoma. *Hum Pathol*. **22**(2). pp:172-178.

Salem A.K., Abdulrab A.Y., Alfakeh Y., Aown A. (2012). Hepatocellular carcinoma in Yemeni patients: a single centre experience over an 8-year period. *Eastern Mediterranean Health Journal* **18**(7). pp:7-20.

Sartor C. (2015). Hnf4 $\alpha$  and choline metabolism role in  $\beta$ -catenin activated liver carcinogenesis, école doctorale 418 : de cancérologie pp:4.

Schlageter M., Teracciano L.M., D'Angelo S., Sorrentino P. (2014). Histopathology of hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol*. **20**(43). pp:15955-15964.

Schunke M., Schulte E., Schumacher U. (2007). Atlas d'anatomie Promethee Maloine. pp:370.

## *Références bibliographique*

---

Stevens A., Lowe J. (2006). Histologie humaine 3ème édition. Paris: Elsevier. pp:459.

Tang D.J., Dong S.S., Ma N.F., Xie D., Chen L., Fu L., Lau S.H., Li Y., Gao, X.Y. (2010). Over expression of eukaryotic initiation factor 5A2 enhances cell motility and promotes tumor metastasis in hepatocellular carcinoma. *Hepatology*. **51**. pp:1255-1263.

Tekeda K., Yasumoto K., Tekeda R., Tekeda S., Watanabe K., Udono T., Saito H., Takakashi K., Shibahara S. (2000). Induction of melanocyte-Specifumicrophthalmia-associated transcription Factor by Wnt -3a. *J Biol Chem*. **275**. pp:14013-14016.

Timraz A. (2010). Les causes d'hépatocarcinome au Maroc. *Revue médecine du Maghreb*. N° **175**. pp:2-4.

Trinchet J.C., Alperovitch A., Bedossa P., Degos F., Hainaut P., Beers B.V. (2009). Épidémiologie, prévention, dépistage et diagnostic du carcinome hépatocellulaire. *Bull Cancer* **96**. pp:35-43.

Valerie P. (2013). Multidisciplinary Treatment of Hepatocellular Carcinoma, Recent Results in Cancer Research. **190**. pp :978-1007.

Wheater P.R., Youn b., Haeth j w. (2004). Histologie fonctionnelle., université boeck. p :424.

Zeitou J.D., Chrysostalis A., Lefevre J. (2011) *Hépatologie Gastro-Entérologie Chirurgie Diagnostique*. pp:280.

Zhu R.X., Seto W.K., Lai C.L., Yuen M.F. (2016). Epidemiology of Hepatocellular Carcinoma in the Asia-Pacific Region *Epidemiology of Hepatocellular Carcinoma in the Asia-Pacific Region*. *Gut and Liver* **10**. pp:332-339.