

Inducció experimental de tumors de vies urinàries en rates Sprague-Dawley amb 2,2-dioxo-di-n-propilnitrosamina (DOPN). Estudi comparatiu amb l'home

Manuel Solé Arqués

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tesisenxarxa.net) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tesisenred.net) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tesisenxarxa.net) service has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized neither its spreading and availability from a site foreign to the TDX service. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service is not authorized (framing). This rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.



INDUCCIO EXPERIMENTAL DE TUMORS DE VIES
URINARIES EN RATES SPRAGUE-DAWLEY AMB 2,2-DIOXO-
DI-N-PROPILNITROSAMINA (DOPN). ESTUDI COMPARA-
TIU AMB L'HOME.

TESI PRESENTADA PER A OPTAR
AL GRAU DE DOCTOR EN MEDICINA
I CIRURGIA PER
MANUEL SOLE ARQUES

BARCELONA, MARÇ DEL 1989



UNIVERSITAT DE BARCELONA
DIVISIÓ DE CIÈNCIES DE LA SALUT - FACULTAT DE MEDICINA
DEPARTAMENT DE BIOLOGIA CEL·LULAR I ANATOMIA PATOLÒGICA

Casanova, 143
Telèfon (34) (3) 330 37 12
08036 BARCELONA
(Spain)

D. ANTONIO CARDESA GARCIA, Catedrático de Anatomía Patológica de la Facultad de Medicina de la Universidad de Barcelona,

C E R T I F I C A :

Que la tesis doctoral efectuada por Don Manuel Solé Arqués, que tiene por título "Inducció experimental de tumors de vies urinaries en rates Sprague-Dawley amb 2,2-dioxo-di-n-propilnitrosamina (DOPN). Estudi comparatiu amb l'home", ha sido realizada bajo mi direcció y se encuentra en condiciones de ser presentada para la obtención del grado de Doctor.

Para que conste a todos los efectos oportunos firmo el presente certificado en Barcelona, el uno de Marzo de mil novecientos ochenta y nueve.

Fdo: Prof. Dr. A. Cardesa

Tal com entenem la investigació científica en el nostre temps, no és concebible que un projecte pugui ser portat a terme per una persona sola. Aquest no és, per descomptat, el cas d'aquesta tesi. Per això, vull donar testimoni del meu agraïment a tots aquells que m'han ajudat i, en alguns casos, hi han col·laborat decisivament:

Al Professor Dr. Antonio Cardesa García, Catedràtic d'Anatomia Patològica de la Universitat de Barcelona, que va impulsar i ha dirigit aquesta tesi. La seva dilatada experiència en el camp de la Patologia Experimental, i el rigor, precisió i entusiasme que caracteritzen la seva tasca investigadora, han estat per a mí un punt de referència constant durant la realització d'aquest projecte.

Al Prof. Ulrich Mohr, Director de l'Institut de Patologia Experimental de l'Escola de Medicina de Hannover, a on es va portat a terme l'experiment que ha servit de base a aquest treball.

A la Sta. Lucila Fresno, que va fer-se càrrec de la realització tècnica de l'estudi immunohistoquímic, i a tot l'equip tècnic del Departament d'Anatomia Patològica

de l'Hospital Clínic de Barcelona, perquè amb la qualitat del seu treball han fet més fàcil la interpretació de les dades morfològiques.

A la Sta. Charo Gómez, que ha carregat amb la tasca, mai prou reconeguda, de mecanografiar i donar forma al manuscrit.

A tots els companys del Departament d'Anatomia Patològica i d'altres serveis de l'Hospital Clínic, que sempre m'han fet costat amb el seu interès i estímul.

I N D E X

I. INTRODUCCIO	1
I.1. MECANISMES PATOGENICS EN LA CARCINOGENESI DE LES VIES URINARIES	4
I.1.a) Iniciació	5
I.1.b) Promoció	10
I.1.c) Persistència-Progressió	12
I.2. CARCINOGENS DE LES VIES URINARIES	13
I.2.a) Amines aromàtiques	13
I.2.b) Nitrosamines	16
I.2.c) Edulcorants artificials	18
I.2.d) Altres carcinògens	19
I.3. MODELS EXPERIMENTALS EN ANIMALS DE LABORATORI	21
I.3.a) Característiques morfològiques de l'uroteli de la rata	23
I.3.b) Lesions preneoplàsiques	25
I.3.c) Anatomia Patològica dels tumors experimentals	28
I.4. INCIDENCIA I MORTALITAT DEL CANCER DE VIES URINARIES EN L'HOME	31
I.5. RISC CARCINOGENIC EN HUMANS	36
I.5.a) Exposició laboral	36
I.5.b) Consum de tabac	37
I.5.c) Altres factors	40

I.6. ANATOMIA PATOLOGICA DEL CANCER DE VIES	
URINARIES EN L'HOME	43
I.6.a) Morfologia de l'uroteli normal	43
I.6.b) Lesions preneoplàsiques	44
I.6.c) Tumors de vies urinàries:	
Característiques, factors pronostics ..	50
II. JUSTIFICACIO I OBJECTIUS	60
II.1. JUSTIFICACIO DEL TEMA	61
II.2. OBJECTIUS	65
III. MATERIAL I METODEDES	66
III.1. INDUCCIO EXPERIMENTAL DE TUMORS DE VIES	
URINARIES	67
III.1.a) Carcinògen	67
III.1.b) Animals	72
III.1.c) Mètode	73
III.2. REVISIO RETROSPECTIVA DELS TUMORS DE VIES	
URINARIES HUMANS	75
III.3. CRITERIS PER A L'ESTUDI MORFOLOGIC COMPARA-	
TIU DELS TUMORS EXPERIMENTALS I HUMANS	76
III.3.a) Classificació dels tumors	77
III.3.b) Classificació de les lesions de	
l'uroteli no tumoral	80
III.4. ESTUDI INMUNOHISTOQUIMIC	81
III.4.a) Marcadors	81

III.4.b) Material experimental per a l'estudi immunohistoquímic	83
III.4.c) Material humana per a l'estudi immunohistoquímic	83
III.4.d) Mètode immunohistoquímic	85
III.5. VALORACIÓ I ANÀLISI DELS RESULTATS	86
IV. RESULTATS	88
IV.1. ESTUDI EXPERIMENTAL	89
IV.1.a) Histologia de la mucosa normal de vies urinàries en la rata	89
IV.1.b) Tumors induïts	91
IV.1.c) Lesions preneoplàsiques	102
IV.1.d) Estudi immunohistoquímic	107
IV.2. REVISIÓ DELS TUMORS HUMANS	131
IV.2.a) Característiques generals	131
IV.2.b) Morfologia dels tumors	131
IV.2.c) Uroteli no tumoral	138
IV.2.d) Recidives	140
IV.2.e) Tumors de pelvis renal: Característiques específiques	145
IV.2.f) Estudi immunohistoquímic	146
V. DISCUSSIÓ	177
V.1. TUMORS EXPERIMENTALS	179
V.1.a) Inducció experimental de tumors de pelvis renal	179

V.1.b) Morfologia dels tumors experimentals i lesions associades	183
V.1.c) Estudi immunohistoquímic	188
V.2. TUMORS I LESIONS PRENEOPLASIQUES EN L'HOME	191
V.2.a) Característiques generals i classificació dels tumors	191
V.2.b) Lesions preneoplàsiques	194
V.2.c) Recidives. Factors pronòstics	195
V.2.d) Estudi immunohistoquímic	198
V.3. ESTUDI COMPARATIU	202
V.3.a) Aspectes carcinogenètics	202
V.3.b) Aspectes morfològics	204
V.3.c) Aspectes immunohistoquímics	209
VI. CONCLUSIONS	211
CONCLUSIONS EXPERIMENTALS	212
CONCLUSIONS DE L'ESTUDI DELS TUMORS HUMANS	214
CONCLUSIONS COMPARATIVES	216
VII. BIBLIOGRAFIA	218

Ha estat trobat un enemic; és part de nosaltres; i hem començat a entendre les seves línies d'atac.

(J. Michael Bishop).

El coneixement de les causes del càncer de les vies urinàries i dels mecanismes implicats en el seu desenvolupament constitueix la base més sòlida per a la seva prevenció i tractament. Aquest coneixement, per bé que és encara incomplet, ha augmentat molt significativament en els darrers anys. L'experimentació animal ha representat una línia d'investigació fonamental en aquest procés: Juntament amb la biologia molecular, ens ha permès descobrir, per exemple, alguns oncogens que podrien ser el punt clau sobre el qual té lloc la transformació neoplàsica; el repte actual és esbrinar quants són i com actuen. Juntament amb l'epidemiologia, ens ha fet conèixer que els carcinògens implicats en el càncer de les vies urinàries es troben en el nostre entorn immediat; però no sabem encara amb certesa la seva importància real i els seus mecanismes d'actuació. Juntament amb els estudis clinicopatològics, ens ha revelat l'existència de lesions urotelials precursoras dels carcinomes; ara es tracta de definir el seu significat biològic exacte.

La revisió que segueix aborda alguns aspectes de l'estat actual dels nostres coneixements sobre el càncer de les vies

urinàries. En una primera part, es descriuen sumàriament els mecanismes implicats en la carcinogènesi, els carcinògens que en poden ser responsables, i els models experimentals que suporten aquestes investigacions. Finalment, es revisen els aspectes epidemiològics i anatomopatològics del càncer humà que poden ser d'interès en el plantejament d'aquest treball.

I.1.MECANISMES PATOGENICS EN LA CARCINOGENESI DE LES VIES URINARIES

El càncer de les vies urinàries és el que d'una manera més consistent i reiterada s'ha considerat relacionat amb l'exposició a carcinògens químics. Desde que L.Rehn. el 1895, va comunicar tres casos de càncer de bufeta en treballadors de la indústria dels colorants a Alemanya, una gran activitat es va generar per tal d'identificar substàncies responsables de la inducció de tumors en les vies urinàries. Des d'un punt de vista pràctic, però, el coneixement dels mecanismes pels quals les neoplàsies es desenvolupen resulta més important de cara a la prevenció que la identificació exhaustiva de tots els possibles carcinògens.

La carcinogènesi química és, precisament, la que millor s'adapta a la teoria multifàsica de la carcinogènesi. Aquesta suposa un procés de desenvolupament neoplàsic seqüencial a través d'un llarg període de temps, que es manifesta en una gran varietat de lesions que poden aparèixer simultàniament o consecutivament (MEDLINE & FARBER 1981). El nombre de fases que es poden reconèixer depèn del nivell en el qual el procés és estudiat. A efectes pràctics, però, es parla de dues fases foramentals i interrelacionades, la iniciació i la promoció, i

una sèrie de fases subseqüents més mal definides, com son la persistència o la progressió (MEDLINE & FARBER 1981, FARBER 1982a).

I.1.a) INICIACIO

Es un procés irreversible relacionat, amb tota probabilitat, amb l'atac directe de l'agent iniciador sobre el DNA de la cèl.lula (PITOT 1982). El tipus de lesió genètica induïda i la manera com aquesta influeix en el funcionalisme cel.lular son objecte d'intensa investigació en el moment actual.

La teoria dels oncogens és la que d'una manera més versemblant explica, com a mínim, alguns dels mecanismes que donen lloc a la gènesi del càncer. L'oncogen és un segment del genoma d'un retrovirus que, en infectar una cèl.lula, no té funció en la replicació del propi virus però indueix transformació neoplàsica. El seu màxim interès radica en l'existència en el genoma de les cèl.lules no infectades de seqüències genètiques homòlogues als oncogens virals, que no son carcinogèniques per sí mateixes. Aquestes seqüències son denominades oncogens cel.lulars o proto-oncogens. La funció en la cèl.lula dels proto-oncogens coneguts fins ara es relaciona amb mecanismes

de fosforilació proteica, regulació metabòlica per fixació del GTP, regulació de la biogènesi del mRNA i participació en la replicació del DNA (BISHOP 1987). La presència dels oncogens en els virus és, amb molta probabilitat, producte de la transmissió d'oncogens cel·lulars als virus en el curs d'infeccions més o menys remotes (VARMUS 1985).

Un oncogen relacionat amb l'inducció experimental de càncer de bufeta urinària és l'oncogen del virus del sarcoma de la rata de Harvey (v-Ha-ras). El seu corresponent cel·lular, el c-Ha-ras, ha estat incriminat també en la carcinogènesi vesical. S'han identificat dos loci del gen c-Ha-ras en el genoma humà; un d'ells és funcionalment actiu i l'altre no; el gen es troba localitzat en el cromosoma 11, i és responsable de la producció d'una proteïna, la p21, que es fixa al GDP i al GTP a nivell de la membrana plasmàtica, i té activitat GTP-asa i autoquinasa; actua probablement com a transductor de senyals desde els receptors fins als efectors intracitoplasmàtics (THOR et al 1986).

La diferència entre l'oncogen viral, que indueix càncer, i l'oncogen cel·lular, d'efecte probablement beneficiós, es pot explicar per dos mecanismes bàsics: Primer, l'existència d'un rearranjament genètic, que modificaria els sistemes de

regulació de l'expressió gènica; segon, canvis en la seqüència de nucleòtids del gen, que modificaria la seqüència d'aminoàcids de la proteïna, alterant el seu comportament (VARMUS 1985).

Una de les formes d'estudiar els processos d'activació dels gens es l'estudi cromosòmic; aquest, encara que no pot detectar alteracions com són les mutacions puntuals, sí que ha demostrat l'importància d'alteracions del tipus de les trisomies, delecions, amplificacions o translocacions, en l'activació dels oncogens (NOWELL & CROCE 1986). Així, en el camp del carcinoma de les vies urinàries, FEARON et al (1985) van demostrar pèrdua de gens en el braç curt del cromosoma 11 -el portador dels gens Ha-ras-en 5 de 12 tumors de bufeta urinària i urèter humans. Aquestes delecions produirien homozigotisme o hemizigotisme dels al·lels no delectats. Una de les teories del desenvolupment neoplàsic es basa, precisament, en l'existència de mutacions recessives (BISHOP 1987).

A nivell mol·lecular, però, la implicació dels oncogens en el càncer de vies urinàries humana no està prou demostrada. En un estudi de FUJITA et al (1985), sobre 47 tumors de bufeta urinària, urèter i pelvis renal, només es van trobar tres casos amb gens Ha-ras activats, dos dels quals amb mutacions

puntuals; no es va trobar cap cas d'amplificació de l'Ha-ras, però sí un cas de Ki-ras amplificat 40 vegades. En conjunt, la freqüència amb que es troben mutacions puntuals en el gen Ha-ras en els tumors de vies urinàries humans és al voltant del 10% (THOR et al 1986). Atés que aquests tumors es relacionen característicament amb carcinògens químics, aquesta xifra contrasta amb l'alta freqüència en que es troba activació dels gens "ras" en tumors induïts químicament en animals d'experimentació (EVA & AARONSON 1983, SUKUMAR et al 1983). Una possible explicació fóra que els carcinògens implicats en el càncer urinari humà no activessin els gens de la família "ras". Cal recordar, però, que la mala funció d'un proto-oncogen o del seu producte no depèn solament de mutacions en el mateix proto-oncogen; pot deure's a defectes de regulació o a un excés de producció d'un producte gènic normal. Probablement, la transformació neoplàsica és producte d'una combinació de lesions genètiques, que podrien influir en característiques diferents dels tumors, com son la seva agressivitat o la seva diferenciació (BISHOP 1987).

Les lesions genètiques induïdes per carcinògens químics s'han correlacionat amb la presència d'adductes DNA-carcinògen. La formació d'aquests adductes requereix l'existència de grups electrofílics en la mol.lècula dels carcinògens que puguin

reaccionar amb els llocs neutrofilics de la cèl.lula diana, entre ells el DNA; aquesta reacció té lloc de forma no enzimàtica amb formació de ponts covalents (MILLER & MILLER 1981). Encara que els carcinògens químics, i entre ells els implicats en la carcinogènesi de vies urinàries, pertanyen a grups amb estructura química diferent, tenen característiques comunes: La majoria d'ells, exceptuant bàsicament els que tenen activitat alquilant o acilant directa, han de ser activats "in vivo" per formar derivats que son els que realment indueixen els tumors; aquests productes químics iniciadors son mol.lècules carregades positivament, és a dir, reactius electrofilics potents (MILLER & MILLER 1981, FARBER 1982a). La manera com s'activen els carcinògens urinaris serà discutida més endavant.

La iniciació és probablement un procés amb dues etapes: Una primera etapa bioquímica que podria ser reversible, però queda fixada per una segona etapa, un episodi de proliferació cel.lular (MEDLINE & FARBER 1981). En el cas dels teixits no proliferants, com és el cas de les vies urinàries, l'existència de necrosi cel.lular prèvia, seguida de regeneració, podria ser un factor determinant important per a la iniciació (FARBER 1984).

I.1.b) PROMOCIO

Segons Farber "la promoció és el procés pel qual un teixit o òrgan iniciat desenvolupa proliferacions focals, una o més de les quals actuen com a precursors d'etapes subseqüents del procés carcinogènic " (FARBER 1982b). Hi ha carcinògens que poden induir tumors sense necessitat d'agents promotors addicionals; es parla llavors de "carcinògens complets", que actuen tant d'iniciadors com de promotors. De vegades, carcinògens complets actüen sinèrgicament; així, l'asbest, el níquel o l'urani, que s'associen a un risc baix de càncer de pulmó, actuant conjuntament amb el tabac representen un risc molt més alt que el tabac sol (FARBER 1984). Altres carcinògens només poden iniciar les cèl.lules en un teixit específic sense produir càncer per sí mateixos; aquests es denominen "carcinògens incomplets". Els agents promotors no tenen la capacitat d'iniciar les cèl.lules però poden promoure cèl.lules iniciades per factors desconeguts, donant l'impressió de que es tracta de carcinògens complets (PITOT 1982).

La natura essencial dels agents promotors i les interaccions bàsiques necessàries per a la promoció de tumors son menys ben conegudes que les propietats dels iniciadors i el procés d'iniciació. La promoció sembla tenir lloc al llarg d'un

període prolongat, i és al menys parcialment reversible (MILLER & MILLER 1981). L'efecte dels agents promotors pot ser modulats per la dieta, factors hormonals o altres factors ambientals (PITOT 1982). Una característica essencial de la promoció és la creació d'un ambient mitogènic que imposa un efecte diferencial entre les cèl·lules iniciades i les que les envolten (FARBER 1982). Es sospita que els teixits i òrgans poden crear un ambient promotor fisiològic (FARBER 1984); un exemple d'aquest mecanisme és l'experiment de ROWLAND et al (1980); la derivació de l'orina va reduir la incidència de tumors induïts amb un carcinògen conegut (N-(4-(5nitro-furil)-2-tiazolil)formamida). El contingut normal de l'òrgan, en aquest cas l'orina, té un efecte significatiu en la promoció.

Les substàncies químiques reconegudes com a promotores tenen una sèrie d'accions diverses en la cèl·lula, preferentment a nivell enzimàtic, però no es coneix una resposta específica de l'activitat promotora. Fins i tot en alguns casos podria ser que hi haguessin implicats metabòlits electrofílics, no actuant sobre el DNA, sinó sobre l'RNA o les proteïnes (MILLER & MILLER 1981). Cal recordar també, com s'ha indicat abans, que és probable que la transformació neoplàsica sigui producte d'una combinació d'alteracions a nivell genètic; algunes d'elles podrien ser induïdes per elements promotors (BISHOP 1987).

I.1.c) PERSISTENCIA - PROGRESSIO

Un cop han aparegut les lesions proliferatives focals (nòduls hiperplàsics, papil·lomes o pòlips), la seva persistència o reversibilitat depèn bàsicament de la persistència de l'estimulació selectiva de la proliferació cel·lular (MEDLINE & FARBER 1981). Aquestes proliferacions persistents son el terreny on apareixen canvis addicionals en una o més cèl·lules, les quals adquireixen autonomia i poden proliferar sense la necessitat d'influències externes (FARBER 1982b). En les vies urinàries, l'existència de lesions d'hiperplàsia atípica, displàsia i carcinoma "in situ" seria la traducció morfològica d'aquests fenòmens que precedeixen al desenvolupament del càncer. En aquest mateix context, la reversibilitat d'algunes etapes de la carcinogènesi, dintre dels processos de promoció i progressió, és suggerida per experiments que demostren que la administració d'àcid 13-cis-retinoic, un derivat de la vitamina A, potent inhibidor de la proliferació cel·lular, redueix la incidència de tumors de bufeta urinària en rates tractades amb nitrosourees i nitrosamines (SPORN et al 1977, GRUBBS et al 1977).

I.2. CARCINOGENS DE LES VIES URINARIES

I.2.a) AMINES AROMATIQUES (Fig. 1a)

Els carcinògens químics responsables de la carcinogènesi ocupacional en relació al càncer de vies urinàries pertanyen al grup de les amines aromàtiques o arilamines. Originalment, aquests productes van aparèixer com a derivats de l'anilina, en la síntesi de colorants per a l'indústria tèxtil. Les més representatives en aquest sentit i les que han demostrat una més evident carcinogenicitat per les vies urinàries humanes són el 2-aminonaftalè (o betanaftilamina), la benzidina i el 4-aminobifenil (LOWER 1982, KUNZE 1979).

Actualment les arilamines es fan servir com a reactius per a preparar colorants en les indústries tèxtils, cosmètiques i de pintures. També com a antioxidants en la fabricació de goma per a cables, i com a accelerants en la preparació de resines plàstiques i poliuretà. (LOWER 1982).

D'altra banda, al voltant de 30 variants d'amines aromàtiques s'han identificat en el fum del tabac; diverses d'entre elles s'han demostrat carcinogèniques (IARC 1986a).

L'interès en descobrir carcinògens endògens que poguessin

induïr càncer de bufeta en persones no exposades a arilamines va fer investigar els metabòlits del triptòfan. Alguns d'entre ells, com la 3-hidroxiquinurenina i l'àcid 3-hidroxi-antranílic son químicament relacionats amb les amines aromàtiques, i es troben elevats en l'orina de pacients amb càncer de bufeta i altres neoplàsies (GUIRA 1971, GALANI et al 1973). La capacitat carcinogènica d'aquests metabòlits, però, no és prou convincent (ARMSTRONG et al 1982).

Finalment, cal esmentar l'acció carcinogènica de dos productes utilitzats com a medicaments: Un d'ells, la clornafazina, és una substància utilitzada per al tractament de malalties hematològiques i que es relaciona amb carcinoma de bufeta urinària en l'home; es tracta d'un anàleg de la beta-naftilamina, el N,N-bis (cloroetil) aminonaftalè. La fenacetina (p-etoxiacetanilida) és un derivat de l'anilina que és usat com a analgèsic i s'ha relacionat amb carcinoma de pelvis renal; és metabolitzada a 2-hidroxi-4-etoxianilina, una arilamina similar a les correntment incriminades en la carcinogènesi vesical.

L'efecte carcinogènic de les arilamines depèn dels mecanismes fisiològics i metabòlics que finalment determinaran l'aparició en les vies urinàries d'un metabòlit electrofílic que pugui reaccionar amb les macromol·lècules de la cèl·lula, bàsicament

el DNA. Les arilamines pateixen en primer lloc un procés de desintoxicació a nivell hepàtic, mitjançant N-acetilació i/o oxidació, per formar N-hidroxiarilamines, i posterior glucuroconjugació. Els glucuroconjugats son excretats a l'orina, a on les glucuronidases presents lliurarien la N-hidroxiarilamina. Aquesta, per acció de l'aciditat de l'orina, perd aigua i esdevé un ió electrofílic. (LOWER 1982).

La complexitat d'aquests mecanismes fa pensar que la diferent susceptibilitat dels individus als carcinògens químics és deguda a diferències d'activitat dels sistemes enzimàtics. Així, s'ha demostrat una incidència lleugerament més alta de càncer de bufeta urinària en individus "acetiladors lents", és a dir, amb baixa activitat de la N-acetiltransferasa, respecte als "acetiladors ràpids". Això s'explica perquè la N-acetilació no és un mecanisme necessari en la carcinogènesi urinària. De forma similar, el gos, que no fa servir la N-acetilació per a metabolitzar les arilamines, desenvolupa fàcilment tumors de vies urinàries amb aquests carcinògens, al contrari que les rates i conills, els quals N-acetilen les arilamines. En canvi, no s'han obtingut resultats amb la inhibició de la beta-glucuronidasa. Tot fa pensar que hi ha una varietat d'enzims implicats en el metabolisme de les arilamines que encara no estàn identificats, i que podrien acabar d'aclarir

la base biològica de la susceptibilitat al càncer de vies urinàries induït per aquests carcinògens.

I.2.b) NITROSAMINES (Fig 1b)

Les nitrosamines son carcinògens potents amb organotropisme múltiple en els animals d'experimentació. Tenen la capacitat d'induir tumors en molts òrgans de la majoria d'espècies, amb un alt grau d'especificitat quant a l'òrgan diana depenent de la seva estructura química (YUSPA & HARRIS 1982). Els òrgans afectats amb més freqüència son pulmons, fetge, esòfag, ronyó i bufeta urinària (LIJINSKY 1970). En la rata, una àmplia varietat de nitrosamines son capaces d'induir tumors de bufeta urinària (HICKS et al 1976).

Les nitrosamines estan difusament distribuïdes i es troben en l'atmosfera urbana, fum del tabac, diversos aliments, begudes alcohòliques i aigua de beguda (LIJINSKY 1970, YUSPA & HARRIS 1982, CARR 1985). Les nitrosamines es poden formar bé en el medi ambient o en el tabac, o bé "in vivo", per reacció de nitrits amb amines. Els nitrits son freqüents en l'aigua de beguda i els vegetals; nitrats i nitrits son utilitzats en diversos procediments de conservació de peix i carn (NEWBERNE

& CONNER 1986). D'altra banda, els nitrits son produïts endògenament en el cos humà, en la seva major part per reducció bacteriana de nitrats en la cavitat oral. La nitrificació de les amines pels nitrits té lloc a pH àcid, principalment en l'estòmac (YUSPA & HARRIS 1982); però també poden formar-se nitrosamines en medi neutre o alcalí per mitjà del NO_2 ; aquest podria ser un mecanisme important en la carcinogènesi pel fum de tabac (TSUDA et al 1986).

Per a la inducció de tumors, les nitrosamines necessiten una activació metabòlica, que consisteix en un procés de conversió enzimàtica, mitjançant oxidases microsomals, a metabòlits reactius. Aquests solen ser monoalquilnitrosamines, derivats inestables que es reorganen espontàniament en ions electrofílics, amb alta reactivitat per a l'alquilació de bases del DNA. El punt principal d'alquilació és la posició N-7 de la guanina, però altres llocs són també alquilats. De fet, sembla que la formació de 7-alquilguanina no té gaire importància en la carcinogènesi. En canvi, l'alquilació de la guanina en la posició O^6 pot produir la incorporació de bases no complementàries durant la síntesi dels àcids nucleics; aquesta seria, en conseqüència, una lesió promutagènica. (MILLER & MILLER 1981, FARBER 1982a, MONTESANO et al 1981).

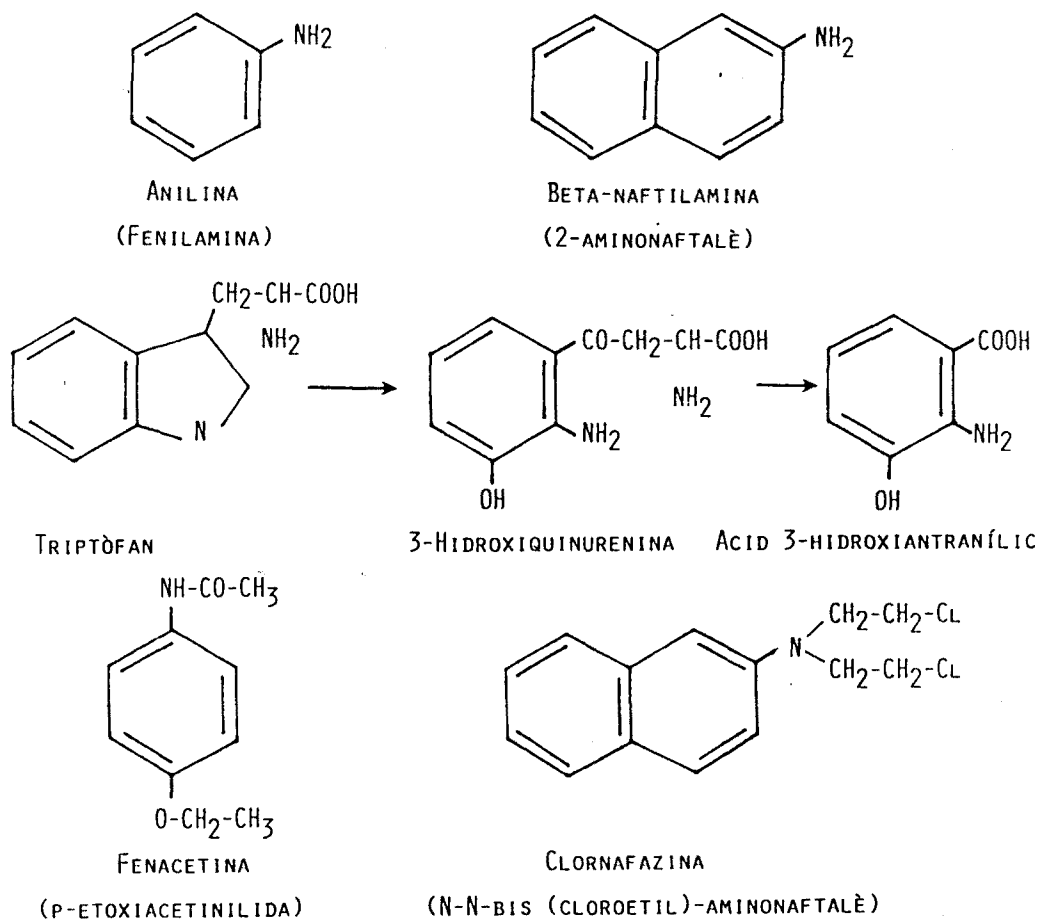
I.2.c) EDULCORANTS ARTIFICIALS (Fig 1c)

Dos edulcorants artificials han estat implicats en la carcinogènesi urinària: La sacarina i el ciclamat sòdic. La sacarina s'obté a partir de l'àcid o-toluensulfònic, i el ciclamat és un derivat per sulfonació de la ciclohexilamina. Ambdós s'excreten per l'orina, si bé el ciclamat pot ser parcialment metabolitzat a ciclohexilamina en el tracte digestiu. Els estudis experimentals en animals no han aportat una evidència suficient de la seva carcinogenicitat actuant en forma aïllada, a menys que es facin servir dosis extremadament altes (IARC 1980, NEWBERNE & CONNER 1986). En canvi, s'ha descrit un marcat augment de la incidència de tumors de bufeta urinària quan actuen com a promotors en associació a carcinògens coneguts, i també en rates induïdes amb ulceració de la mucosa vesical (COHEN et al 1979, IARC 1980). Aquests resultats, però, no han estat confirmats per altres investigadors (SOUDAH et al 1981). Els estudis humans, malgrat alguns resultats incials, no han demostrat associació ni augment del risc de càncer de bufeta en relació amb el consum d'edulcorants artificials (JENSEN et al 1983, IARC 1980, NEWBERNE & CONNER 1986).

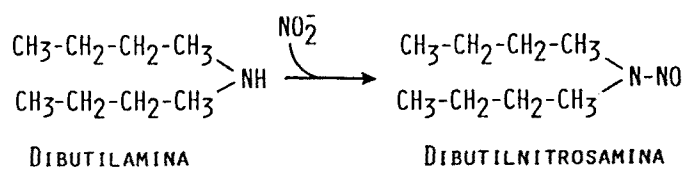
I.2.d) ALTRES CARCINOGENS

A més a més d'una gran varietat d'amines aromàtiques i nitrosamines, altres composts químics són capaços d'induir carcinomes de bufeta urinària en animals d'experimentació, encara que la seva significació en la carcinogènesi humana és escassa. Entre els més efectius cal destacar les nitrosamides, principalment la N-metil-N-nitrosourea, i els nitrofurans, com la N-(4(5-nitro-2-furil)-2-tiazolil) formamida. Altres són el dietilenglicol, dietilestilbestrol, azotoluè, etc. (HICKS 1976).

A) AMINES AROMATIQUES



B) NITROSAMINES



C) EDULCORANTS ARTIFICIALS

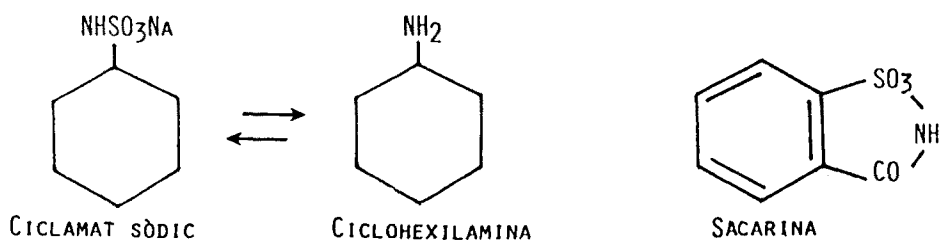


Fig. 1 - Carcinogens de les vies urinàries.

I.3. MODELS EXPERIMENTALS EN ANIMALS DE LABORATORI

Els estudis experimentals sobre càncer de vies urinàries es van iniciar amb el propòsit de demostrar el caràcter carcinogènic de les amines aromàtiques. Això no es va aconseguir fins que Hueper, l'any 1938, va induir tumors de bufeta urinària en gossos amb 2-aminonaftalè (LOWER 1982). Els estudis experimentals amb gossos, però, van resultar excessivament llargs i massa limitats en nombre per a obtenir resultats estadísticament significatius. En animals petits, com el hamster, la rata i el ratolí, durant molts anys no hi va haver una substància carcinogènica capaç de produir tumors de vies urinàries en quantitat suficient (KUNZE 1979, WOOD & BONSER 1979, ALTHOFF & CHESTERMAN 1982). Actualment, es disposa de diversos models experimentals útils per al càncer de bufeta urinària en la rata. Aquesta espècie s'adapta bé a les necessitats de la investigació en aquest camp, degut a la seva mida, que permet obtenir dades de nombres suficients d'animals, i a les característiques de la seva bufeta urinària. Diversos carcinògens son capaços d'induir tumors de bufeta urinària en gran proporció: Dibutilnitrosamina i derivats (MURPHY & IRVING 1981, HASHIMOTO et al 1982); N-(-4-(5-nitro-2-furil)-2-tiazolil)-formamida (TILTMAN & FRIEDEL 1971, FRIEDEL et al 1977, KIEL et al 1978, ADOLPHS et al

1978, DRAGO 1984), i nitrosometildodecilamina (TAYLOR 1985), son un 100% efectius en la producci6 de tumors vesicals en rates, quan s'administren per via general. La metilnitrosoarea instil.lada directament a la bufeta  s també altament efectiva (SOUDAH et al 1981, OYASU et al 1987).

Tumors d'urèter i pelvis renal es descriuen rarament en les diverses espècies. En la rata, han estat induïts ocasionalment amb 2-aminonaftalè (HICKS et al 1976), diversos nitrofurans (ERTURK et al 1967, COHEN et al 1975, KIEL et al 1978), derivats de la dipropilnitrosamina (REZNIK & MOHR 1976, POUR et al 1979), i metilnitrosoarea per instil.laci6 vesical (SOUDAH et al 1981).

Comparativament amb la rata, pocs carcin6gens son capaços d'induir tumors de vies urinaries en el ratolí. En la bufeta urinària, els més efectius han estat la N(4-(5-nitro-2-furil)-2-tiazolil) formamida i la butil-(4-hidroxibutil)-nitrosamina (ERTURK et al 1970, WOOD & BONSER, 1979). Tumors de pelvis renal i urèter nomes han estat descrits ocasionalment (TERRACINI & CAMPOBASSO 1979).

En el hamster, nomes s'ha descrit una incidència elevada de tumors vesicals amb 2-acetilaminofluor  (OYASU et al 1970) i

2-naftilamina (SAFFIOTTI et al 1967). Igualment, la inducció de tumors de pelvis renal i urèter es gairebé anecdòtica (OYASU et al 1970, ALTHOFF et al 1971).

I.3.a) CARACTERISTIQUES MORFOLOGIQUES DE L'UROTELI EN LA RATA:

L'estructura bàsica de l'uroteli és similar en diversos animals de laboratori, com la rata, el ratolí, el hamster, el gat i el gos. La descripció que segueix es basa principalment en l'uroteli de la rata.

L'uroteli s'extèn desde la pelvis renal fins a la uretra, amb poques variacions estructurals. Es distingeixen bàsicament tres capes de cèl.lules, encara que en la bufeta urinària, i depenent de l'estat de distensió, es poden veure d'una a quatre capes (KUNZE 1979). S'observa un patró regular de diferenciació desde la capa basal a la superficial. Les cèl.lules basals son petites, poc diferenciades, mentre que les superficials son grans, amb freqüència binucleades, amb nuclis poliploides (HICKS et al 1976). Amb microscopia electrònica s'observa que les cèl.lules basals estàn fixades a la làmina basal per hemidesmosomes, i a les cèl.lules adjacents per desmosomes. Les cèl.lules superficials estan

limitades en la superfície luminal per una membrana de gruix asimètric, que es continua amb l'aparell de Golgi formant vesícules fusiformes. S'observen també filaments de queratina i lisosomes (HICKS et al 1976, ADOLPHS et al 1977). A més de desmosomes, les cèl.lules superficials disposen d'unions denses entre les membranes laterals. Encara que en altres espècies, i també en la rata, s'han descrit processos citoplasmàtics que uneixen les cèl.lules de totes les capes amb la làmina basal, aquestes observacions no han estat confirmades per altres autors (KUNZE 1979, HICKS et al 1976). La microscopia electrònica de "scanning" demostra la presència de microcrestes en les cèl.lules superficials i microvellositats en les cèl.lules dels estrats inferiors (FRIEDEL et al 1977).

L'uroteli de la rata expressa una gran varietat d'enzims, dels quals el més significatiu és la fosfatasa alcalina, que és present en totes les capes excepte en la vessant luminal de les cèl.lules superficials (KUNZE 1979).

I.3.b) LESIONS PRENEOPLASIQVES

La hiperplàsia urotelial és la primera lesió que es reconeix després de l'administració del carcinògen a l'animal d'experimentació. S'observa de forma gairebé constant a tots els nivells del tracte urinari. La majoria d'autors consideren aquesta la lesió preneoplàsica més precoç. Encara que morfològicament és indistingible de les hiperplàsies provocades per agents citotòxics no carcinogènics (HICKS et al 1976), la hiperplàsia produïda per carcinògens s'ha provat que és irreversible; estudis seqüencials demostren persistència de les lesions i/o progressió a tumors en animals als quals s'interromp l'administració de carcinògen en l'etapa en que només es desenvolupen hiperplàsies (KOSS & LAVIN 1971, FRIEDEL et al 1977, KUNZE 1979). El grau d'hiperplàsia no sembla dependre de la quantitat de carcinògen administrada.

El concepte de displàsia en els animals d'experimentació és víctima d'una gran indefinició. La interpretació de les alteracions cel·lulars presents en l'uroteli no tumoral de la rata suposa una gran dosi de subjectivitat. Així, alguns autors no consideren l'existència de displàsia en els seus experiments (HICKS et al 1976, KOSS & LAVIN 1971), mentre que d'altres la troben de manera gairebé constant (KIEL et al 1978, MURPHY & IRVING 1981, DRAGO 1984). La possibilitat de

trobar alteracions displàsiques importants en l'uroteli no tumoral sembla ben demostrada, per bé que la seva freqüència és probablement baixa, i la seva importància com a lesió precursora és dubtosa. Així, MURPHY & IRVING (1981) fent servir uns criteris acurats per a la definició dels diferents graus de displàsia, van trobar, en una anàlisi seqüencial de bufetes de rates induïdes amb carcinògen (butil-4-hidroxitilnitrosamina), que abans de l'aparició de tumors només s'observaven alteracions mínimes en l'epiteli; alteracions marcades, amb cromatina irregular, nucleols i mitosis apareixien només en associació amb carcinomes francs.

El carcinoma "in situ" és una entitat més ben definida, però el seu paper en la carcinogènesi experimental tampoc sembla prou aclarit. Quan es presenta, en molts casos és de tipus escamós -desenvolupat sobre una metaplàsia escamosa- i se sol associar a carcinomes invasors (KOSS & LAVIN 1971, OYASU et al 1987). De fet, alguns autors, com HICKS et al (1976), dubten de la seva existència com a lesió precursora, i altres, com KUNZE (1979) i OYASU et al (1987) el consideren de poca importància en el desenvolupament del carcinoma invasor en la rata. KUNZE (1979), en un experiment amb 177 animals, només en va trobar sis amb carcinoma "in situ". S'ha interpretat que el carcinoma "in situ" necessita una inducció lenta i prolongada,

i que en els models experimentals el progrés de la malaltia sol ser massa ràpid perquè s'estableixi un carcinoma "in situ" persistent (KOSS & LAVIN 1971, HICKS et al 1976).

El fet de que el carcinoma urotelial pugui desenvolupar-se sense l'aparició de lesions displàsiques prèvies ha obligat a buscar altres formes de detectar els canvis preneoplàsics. A nivell ultraestructural, l'exposició al carcinògen es manifesta per l'aparició de microvellositats en la vessant luminal de la membrana de les cèl.lules superficials (ADOLPHS et al 1978, FRIEDEL et al 1977). Segons FRIEDEL et al (1977), l'aparició de microvellositats pleomòrfiques seria un indicador d'alteració proliferativa epitelial irreversible, si bé no necessàriament progressiva. FUKUSHIMA et al (1981), però, van demostrar més endavant que vellositats pleomòrfiques es poden observar també en lesions hiperplàsiques reversibles. Probablement relacionats amb aquesta alteració de la membrana es poden detectar també canvis en l'expressió enzimàtica de l'epiteli; la pèrdua de l'activitat de fosfatasa alcalina precedeix fins i tot l'aparició d'hiperplàsies (KUNZE 1979). També s'han detectat canvis estructurals en les glicoproteïnes de la membrana en el curs del procés carcinogènic (TAKAI et al 1987).

I.3.c) ANATOMIA PATOLOGICA DELS TUMORS EXPERIMENTALS -

La classificació dels tumors de les vies urinàries en la rata varia segons els autors. De cara a valoracions comparatives, és freqüent l'ús de les classificacions habitualment aplicades als tumors humans (KIEL et al 1978, KUNZE 1979). Desde el punt de vista descriptiu, però, és més adient una classificació que tingui en compte de manera independent el patró de creixement i les característiques citològiques (HICKS et al 1976).

Bàsicament, cal reconèixer dos patrons de creixement dels tumors urotelials: Un patró exofític, papil·lar, i un patró infiltratiu, sòlid.

- Tumors papil·lars: La gradació dels tumors papil·lars en la rata és conflictiva, per diverses raons:

. Una classificació senzilla considera papil·lomes els tumors no invasors, i carcinomes els invasors (TILTMAN & FRIEDEL 1971). La capacitat infiltrativa dels tumors papil·lars, però, és limitada (KUNZE 1979). Segons aquest criteri, la majoria dels tumors serien classificats com a papil·lomes, fins i tot quan hi ha important atípia cel·lular.

. La classificació segons el grau d'atípia nuclear suposa les mateixes dificultats que comporta la definició de

displàsia. Encara que s'estableixin criteris concrets, la classificació implica un cert grau de subjectivitat.

. Els tumors experimentals presenten sovint atípies aïllades o en petits focus (KUNZE 1979). Un mateix tumor pot presentar dues o més àrees de diferent grau de malignitat (OYASU et al 1987). La manera com es valoren aquestes característiques influeix en la classificació.

En general, el tipus histològic dels tumors papil·lars és transicional, per bé que és molt freqüent la metaplàsia o diferenciació escamosa en més o menys extensió (KUNZE 1979, HICKS et al 1976, HERMAN et al 1985, SOUDAH et al 1981). Aquesta característica es pròpia tant dels tumors de la rata com dels del ratolí i el hamster (WOOD & BONSER 1979, ALTHOFF & CHESTERMAN 1982). La metaplàsia escamosa es de tipus queratinizant moltes vegades. S'ha relacionat la seva presència amb una més gran agressivitat del tumor (OYASU et al 1987). Fins i tot en lesions inicials, però, cèl·lules d'aspecte indiferent expressen queratines pròpies d'epiteli escamós (HERMAN et al 1985).

Els tumors papil·lars es desenvolupen a partir de la hiperplàsia, i aquesta s'admet com a pas previ imprescindible (KOSS & LAVIN 1971). Hi ha tot un espectre continu entre l'uroteli normal, hiperplàsia, hiperplàsia papil·lar, papil·loma i carcinoma papil·lar (KUNZE 1979, SOUDAH et al 1981). En alguns experiments es descriuen també papil·lomes constituïts per un sobrecreixement del teixit conjuntiu i recoberts per epiteli d'aspecte normal, que s'invagina donant una imatge de papil·loma invertit (KUNZE 1979, HERMAN et al 1985).

- Tumors invasors no papil·lars: La freqüència dels tumors sòlids invasors en l'animal d'experimentació no està prou aclarida. En moltes ocasions es troben en el mateix lloc un component papil·lar i un component invasor sòlid (KOSS & LAVIN 1971, KUNZE 1979, OYASU 1987). Això fa que la interpretació variï segons els autors. Molts d'aquests carcinomes son en gran part escamosos, i amb freqüència s'associen amb metaplàsia escamosa de l'uroteli superficial (KOSS & LAVIN 1971, OYASU et al 1987). Més rarament s'observa diferenciació glandular, de tipus mucosecretor (KUNZE 1979). El carcinoma escamós i l'adenocarcinoma purs son relativament infreqüents (KUNZE 1979, HICKS et al 1976).

I.4. INCIDENCIA I MORTALITAT DEL CANCER DE VIES URINARIES EN L'HOME.

Encara que els tumors de pelvis renal, urèter i bufeta urinària son similars desde el punt de vista de l' etiologia i la histopatologia, les estadístiques epidemiològiques solen agrupar els dos primers amb els tumors renals. Tot i amb això, tenint en compte que el carcinoma renal es 4 o 5 vegades superior en freqüència al de pelvis renal i urèter combinats (BENNINGTON & BECKWITH 1975), es pot deduir per a aquests una incidència aproximada d'un cas per 100.000 habitants i any (WATERHOUSE et al. 1982). La importància epidemiològica del càncer de vies urinàries depèn, doncs, fonamentalment de la bufeta urinària.

El càncer de bufeta urinària es troba entre els sis tipus de càncer més freqüents en el sexe masculí, en tot el món industrialitzat. La relació de freqüència aproximada entre home i dona es de 3:1, similar a la dels càncers d'urèter i pelvis renal. També en totes tres localitzacions la incidència augmenta amb l'edat.

La incidència de càncer de bufeta urinària en el sexe masculí en els diferents registres d'Europa occidental varia entre

15-22 casos per 100.000 habitants i any, amb un màxim de 30/100.000 a Ginebra. Als Estats Units, es de 20-25/100.000 entre els blancs i de 5-7/100.000 entre els negres. Al Japó, la incidència és entre 5-8 casos par 100.000 habitants i any (WATERHOUSE et al 1982). En general, les variacions geogràfiques se solen relacionar amb el nivell d'industrialització. No hi ha dubte, però, que altres factors com son la raça, el nivell de vida i la dieta poden influir. Una dificultat adicional en aquest tipus de neoplàsies és l'existència de diferents classificacions que consideren un grup relativament ampli de tumors de vies urinàries bé com a papil.lomes benignes, bé com a carcinomes de baix grau.

A Espanya, al voltant de l'any 1980 els diferents registres de tumors mostraven una incidència entre 17,8 i 34,6 casos per 100.000 habitants per als homes, i entre 1,8-8,1/100.000 per a les dones (ZUBIRI et al 1985). Entre els registres espanyols homologats internacionalment, el de Tarragona (1980-1985) és el que ofereix les taxes més altes: 22,6 casos per 100.000 habitants en els homes, que correspòn a la quarta forma més freqüent de càncer, després dels de pell, bronqui i colon i recte. En les dones, amb una incidència de 3,3 casos per 100.000 habitants, es troba també entre les deu formes més freqüents de càncer (BORRAS et al 1988).

L'anàlisi de les dades dels diferents registres demostra un

increment continuat de la incidència d'aquesta neoplàsia. Als Estats Units, la incidència en els homes blancs del sexe masculí ha augmentat desde 14,1 en el període 1937-39 a 21,3 en el període 1969-71. L'augment en la incidència afecta també als negres i a les dones (MORRISON & COLE 1982). Els registres espanyols mostren també aquest fenomen (Taula 1). Encara que les dades de l'any 1980 corresponen només a aquest any i són, per tant, menys valorables, com a mínim serveixen per a confirmar aquesta tendència (MATEO et al 1976, VIVES et al 1982, ZUBIRI et al 1982, ZUBIRI et al 1985). L'augment de la incidència es relaciona amb l'augment de la longevitat, i amb la major exposició a carcinògens. En el cas dels registres espanyols, cal considerar també els progressos en el sistema de recollida de dades (ZUBIRI et al 1985).

Contrastant amb aquest augment de la incidència, la mortalitat per càncer de bufeta es manté estable als Estats Units, o fins i tot amb una certa tendència a reduir-se, almenys en els blancs (MORRISON & COLE 1982). A Espanya, la mortalitat per aquesta neoplàsia va enregistrar un augment entre 1955 (3,6 morts per 100.000 h.) i 1975 (5,8 morts per 100.000 h.) en el sexe masculí (LOPEZ-ABENTE 1983). En canvi, les estadístiques de l'Institut Municipal de la Salut de Barcelona mostren una

mortalitat estable entre 1960 y 1978, al voltant d'un índex de 9 morts per 100.000 habitants i any en el sexe masculí; aquest índex es similar al de mortalitat per càncer de laringe, i se situa per darrera de la mortalitat per càncer de pulmó, estòmac, pròstata, fetge, i colon i recte (BOSCH et al 1982). El manteniment dels índex de mortalitat malgrat l'augment d'incidència s'explica per la major proporció de casos que es troben en estadis localitzats en el moment del diagnòstic (MORRISON & COLE 1982), i probablement també per la millora en els mètodes de tractament.

TAULA 1 - EVOLUCIO DE LA INCIDENCIA DE CANCER
DE BUFETA EN DOS REGISTRES ESPANYOLS

REGISTRE	SEXE	INCIDENCIA (n x 100.000 h/any)		
		1968-72	1973-77	1980
SARAGOSSA	M	10,9	15,6	21,1
	F	2,0	1,9	4,7
NAVARRA	M	-	15,4	31,3
	F	-	1,6	3,9

I.5. RISC CARCINOGENIC EN HUMANS

I.5.a) EXPOSICIO LABORAL

Ja ha estat esmentat que el càncer de vies urinàries és un exemple clàssic de carcinogènesi per exposició laboral, i que es relaciona amb productes industrials del grup de les arilamines. Està demostrada experimentalment i epidemiològicament la carcinogenicitat d'arilamines presents en colorants tèxtils (2-aminonaftalè, benzidina, 4-aminobifenil); en tints pel cabell (2-4 diaminotoluè, p-cresidina); en la manufacturació de resines plàstiques (4-4'-metilè-bis (2-cloroanilina)) i poliuretans (3-3-diclorobenzidina). Alguns dels productes esmentats i d'altres relacionats son encara d'us general en aquestes indústries. Per tant, l'exposició a aquests productes afecta directament a treballadors de la indústria química, de colorants, tèxtil, manufactura de la goma, pintors i perruquers (GUIRA 1971, LOWER 1982). En un treball recent sobre un grup de 1385 treballadors exposats a amines aromàtiques, principalment beta-naftilamina, el risc de desenvolupar càncer de bufeta urinària va resultar set vegades superior que el de la població no exposada (SCHULTE et al 1986).

En l'ambient laboral també pot tenir lloc l'exposició a

nitrosamines. Algunes d'aquestes substàncies s'han fet servir com a acceleradors i antioxidants en la fabricació de goma. S'han identificat com a contaminants de l'aire en algunes indústries. Sals de nitrit es fan servir com a inhibidors de la corrosió en materials d'emalatge, i també es troben en alguns herbicides (IARC 1978).

La importància de l'exposició laboral en la incidència total del càncer de bufeta urinària se situa entre el 10 i el 50%, depenent del tipus de població estudiada (LOWER 1982). Encara que els registres d'incidència mostren diferències poc importants entre les poblacions urbanes i rurals d'una mateixa zona, és evident que el càncer de bufeta es localitza de forma molt acusada en les àrees industrialitzades (WATERHOUSE et al 1982).

I.5.b) CONSUM DE TABAC

L'exposició al fum de tabac s'ha relacionat epidemiològicament amb el càncer de vies urinàries desde fa anys (COLE et al 1971). El risc de patir un càncer de bufeta urinària es entre 3 i 5,4 pels fumadors de més de 20 cigarrets/dia sobre els no fumadors. Aquest risc és encara superior en el cas de càncer

de pelvis renal i urèter (IARC 1986b). La proporció de la incidència de càncer de vies urinàries atribuïble al tabac varia entre un 20 i un 40% o més segons les zones, amb xifres probablement més altes en els homes y més baixes en les dones (LOWER 1982, IARC 1986b).

L'activitat carcinogènica del fum del tabac en les vies urinàries es pot explicar pel seu contingut en amines aromàtiques i nitrosamines. Quant a les amines aromàtiques, s'hi ha identificat anilina i diversos derivats, entre els que cal remarcar ortotoluidina, 2-aminonaftalè, 4-aminobifenil, etc., tots ells amb activitat carcinogènica demostrada. (IARC 1986a).

Aquestes amines es formen probablement, al menys en part, per pirolisi a partir de la nicotina i d'altres alcaloides piridínics. Les concentracions d'aquests productes son baixes i per tant cal considerar que l'exposició és d'escassa magnitud i crònica; amb tot, aquesta exposició és probable que s'asocïi amb un risc real (LOWER 1982). Cal afegir que aquestes arilamines es troben en concentracions 30 vegades superiors en el denominat flux lateral de fum que en el flux principal (IARC 1986a). El flux lateral correspon a la combustió que té lloc quan el fumador no està aspirant; es

tracta, en conseqüència, d'una combustió pobra en oxígen, i produeix en general més quantitat de carcinògens coneguts que el flux principal. Aquest fum és el que en major proporció és aspirat pels no fumadors en un ambient contaminat per fum de tabac.

Les nitrosamines presents en el fum del tabac es poden dividir en nitrosamines específiques i no específiques. Les primeres es formen per N-nitrosació dels alcaloides del tabac pels nitrats presents en la planta o bé durant la combustió. Aquest grup comprèn les nitrosamines carcinogèniques més abundants en el fum del tabac. Entre les no específiques destaquen la dimetilnitrosamina i la N-nitrosopirrolidina, ambdues carcinogèniques en animals d'experimentació. Es formen principalment a partir d'amines i òxids de nitrògen durant la combustió. Aquestes nitrosamines son també molt més abundants en el flux lateral de fum que en el flux principal (IARC 1986a).

Una altra font de producció de nitrosamines en el fum del tabac són els òxids de nitrògen, que es troben en el flux principal i en l'ambient contaminat pel fum. Com ja s'ha esmentat abans, aquests poden contribuir a la formació endògena de nitrosamines en condicions neutres o alcalines. Això ha estat demostrat indirectament per l'increment de

nitrosaminoàcids en l'orina en relació amb el consum de tabac, fet que no es pot explicar per una major formació a nivell gàstric (TSUDA et al 1986). En condicions adequades, el mateix mecanisme podria donar lloc a la formació de nitrosamines carcinogèniques a partir de les amines presents en el tabac. També el tabac conté nitrosaminoàcids que poden decarboxilar-se durant la combustió i donar lloc a nitrosamines carcinogèniques (IARC 1986 a).

I.5.c) ALTRES FACTORS

Ja s'ha fet esment de la poca importància que el consum d'edulcorants artificials sembla tenir en la carcinogènesi urinària humana. L'acció promotora demostrada en els estudis experimentals té probablement més relació amb l'acció irritativa dels productes administrats a dosis altes en excretar-se per l'orina (NEWBERNE & CONNER 1986, SOUDAH et al 1981).

La relació entre el càncer de bufeta urinària i el consum de cafè és encara poc coneguda. Probablement l'agent causal serien hidrocarburs carcinogènics presents en el cafè torrefacte. Diversos autors consideren el cafè com causa d'una part important del càncer de bufeta humana (MORRISON & COLE 1982, WEINBERG et al 1983). La informació disponible, però, no

permet encara treure conclusions sobre la natura exacta d'aquesta relació (MORRISON & COLE 1982, ARMSTRONG et al 1982).

També s'ha relacionat el càncer de bufeta amb el consum de falgueres (*Pteridium aquilinum*) en alguns països, i amb la deficiència de piridoxina, que produiria un augment de l'excreció de metabòlits carcinògenics del triptòfan.

L'abús d'analgèsics contenint fenacetina augmenta el risc de patir un carcinoma de vies urinàries, amb una alta proporció de tumors de pelvis renal i urèter (BENGTSSON 1978). Encara que els analgèsics contenen altres substàncies, cal recordar que la fenacetina és una substància relacionada amb les amines aromàtiques. Per bé que amb poca incidència, la fenacetina és també capaç d'induir tumors de pelvis renal en animals d'experimentació (JOHANSSON 1981).

Una alta incidència de tumors de pelvis renal ha estat observada a Jugoslàvia i països veïns, en associació amb l'anomenada nefritis dels Balcans. S'ha suggerit que aquest fenomen pot estar relacionat amb l'alt contingut en radon i altres minerals en l'aigua de beguda de les zones afectades (PETKOVIC 1975).

La infecció per Schistosoma haematobium és un factor conegut en relació amb el desenvolupament de carcinoma escamós de la bufeta urinària en el nord d'Àfrica (KHAFAGI et al 1972). En el camp experimental s'han produït tumors de bufeta urinària i urèter en animals infectats amb Schistosoma; paradoxalment, en els animals aquests tumors són de cèl.lules transicionals (KUNTZ et al 1971, 1972).

També han estat descrits carcinomes escamosos en relació amb l'ús de ciclofosfamida (WALL & CLAUSEN 1975). Ja hem citat abans que un altre fàrmac usat en quimioteràpia, la clornafazina, relacionat amb les arilamines, és capaç també d'induir càncer de bufeta urinària.

I.6. ANATOMIA PATOLÒGICA DEL CANCER DE VIES URINÀRIES EN L'HOMÈ.

I.6.a) MORFOLOGIA DE L'UROTELI NORMAL

L'uroteli és un epíteli poliestratificat constituït per un nombre de capes variable: En la pelvis renal es de 2 o 3 capes, en l'urèter de 4 o 5 (BENNINGTON & BECKWITH 1975), i en la bufeta urinària fins a set capes, depenent de l'estat de distensió (KOSS 1975). La característica principal d'aquest epíteli és la presència de la capa de cèl.lules superficials, sovint binucleades o polinucleades, cada una de les quals cobreix diverses cèl.lules dels estrats inferiors. En la bufeta urinària, les cèl.lules dels estrats intermedis son sovint vacuolitzades i carregades de glucògen. L'epíteli de pelvis renal i urèter té cèl.lules més grans i menys vacuolitzades que el de la bufeta (MURPHY & SOLOWAY 1982). A nivell ultraestructural, l'estructura i les relacions entre les cèl.lules son similars al que s'ha descrit abans en la rata; en canvi, les característiques vesícules fusiformes, que es consideren l'origen de la membrana asimètrica, no s'han pogut demostrar amb claredat en l'uroteli humà. L'uroteli de la pelvis renal sembla tenir a més una dotació lisosomal

inferior al de la bufeta (BENNINGTON & BECKWITH 1975, KOSS 1975). Amb microscopia electrònica de "scanning", en lloc de les microcrestes que s'observen en la superfície de l'uroteli de la rata, en l'home es poden observar microvellositats (FRIEDEL 1977).

L'uroteli està separat de la capa muscular per una quantitat variable de teixit conjuntiu lax. Es escàs en la pelvis renal i molt abundant en la bufeta; en aquesta localització és freqüent observar fibres musculars, que en casos aïllats constitueixen una autèntica muscularis mucosae (RO et al 1987).

I.6.b) LESIONS PRENEOPLÀSIQUES

Hiperplàsia: La hiperplàsia en l'uroteli humà es defineix com l'engruiximent de l'epiteli amb un nombre de capes superior a set, amb nul·la o mínima alteració nuclear. Si bé en l'animal d'experimentació el significat de la hiperplàsia com a lesió precursora dels tumors de vies urinàries és ben establert, en l'home ha estat més difícil estudiar-la en forma pura. En general, les lesions hiperplàsiques s'identifiquen en l'uroteli adjacent als tumors urotelials, tant en la bufeta urinària

com en la pelvis renal (KOSS 1979, MAHADEVIA et al 1983). Però poden trobar-se també en relació amb tumors no epitelials, i en relació amb altres lesions no neoplàsiques, com pot ser la inflamació crònica (KOSS 1975). No existeixen criteris morfològics per a distingir les hiperplàsies amb potencial preneoplàsic de les reactives.

Displàsia: La displàsia és un espectre d'alteracions entre l'uroteli normal i el carcinoma "in situ". Es pot presentar en un uroteli de gruix normal o hiperplàsic (hiperplàsia atípica). En un intent de comparar la carcinogènesi vesical amb el càncer cervical uterí, ha estat habitual classificar la displàsia en lleu, moderada i severa. No hi ha, però, un criteri uniforme per a fer aquesta classificació. Si es considera la displàsia lleu com la correspondència en l'uroteli pla de les alteracions pròpies dels carcinomes de grau I, la displàsia moderada com els de grau II, i la displàsia severa com els de grau III (WOLF & HOJGAARD 1983), resulten les mateixes dificultats que es comentaran més endavant amb la classificació dels tumors papil·lars. MURPHY & SOLOWAY (1982) van definir amb precisió els criteris per a la classificació de les displàsies:

Displàsia lleu: Falta de vacuolització de les cèl·lules.

Cèl.lules basals i intermèdies més grans (Com s'ha indicat abans, aquests criteris no son útils per l'uroteli de pelvis renal i urèter). Nuclis esfèrics, amb pèrdua de la polaritat. Tendència a l'agrupament i superposició dels nuclis. Indentacions nuclears. Cromatina granular. Nuclèols petits. Cèl.lules superficials no alterades.

Displàsia moderada: Les mateixes alteracions que en la displàsia lleu, però quantitativament més importants.

Displàsia severa: Cèl.lules grans i hipercromàtiques. Pleomorfisme. Cromatina irregular. Nuclèols grans. Mitosis freqüents (no necessàriament). Aquests elements displàsics es barregen amb cèl.lules menys alterades, i es conserven les cèl.lules superficials.

Els mateixos autors indicaven la dificultat de distinguir entre displàsia lleu i epiteli reactiu, regeneratiu o reparatiu, i entre displàsia severa i carcinoma "in situ". Fent servir aquests criteris, NAGY et al (1982) van fer evaluar a deu patòlegs 26 lesions urotelials planes no invasores. Només hi va haver unanimitat en lesions benignes o malignes òbvies. Hi va haver un consens raonable quan a la classificació en hiperplàsia, atípia/displàsia i carcinoma "in

situ". La classificació en graus de la displàsia va restar subjecta a una certa variabilitat individual.

La mateixa diversitat de conceptes en la definició de la displàsia fa que la incidència d'aquesta alteració varïi segons els autors. També varia segons hagi estat estudiada només en uroteli adjacent als tumors o també en biòpsies de zones allunyades, per bé que les anormalitats són més freqüents en les zones adjacents als tumors (MURPHY et al 1979, KOSS 1979, MAHADEVIA et al 1983).

En resum, la displàsia resulta poc freqüent en relació amb carcinomes de grau I (WOLF & HOJGAARD 1983), per bé que ALGABA (1985) la troba en el 27% dels casos d'aquest grup. La incidència augmenta en els tumors de grau més alt, fins al 60% en relació amb tumors de grau III (KAKIZOE et al 1985). L'evolució de les lesions és també difícil de determinar; alguns autors consideren conjuntament totes les lesions atípiques (displàsia i carcinoma "in situ") (MURPHY et al 1979). S'ha trobat una relació significativa entre l'existència de displàsia i les recidives (WOLF & HOJGAARD 1983) i el desenvolupament de tumors invasors (ALTHAUSEN et al 1976). Tot i amb això, hi ha una proporció important de displàsies que no progressen o, fins i tot, desapareixen (ALGABA 1985).

Carcinoma "in situ": La definició de carcinoma "in situ" de l'uroteli, encara que és menys precisa que en el cèrvix uterí, no resulta conflictiva. S'accepta com a tal l'epiteli pla que conté cèl.lules amb característiques evidents de malignitat, amb patró desordenat i pèrdua parcial o total de les cèl.lules superficials. El gruix de l'epiteli és variable. Es descriuen diversos patrons histològics: Un tipus clàssic, de cèl.lules petites ocupant tot el gruix de l'epiteli; un tipus de cèl.lules grans; i un tipus pagetoide, amb cèl.lules grans aïllades (KOSS 1979). Es frequent assimilar la displàsia severa al carcinoma "in situ", atès que la seva distinció sembla poc important en la pràctica (MURPHY&SOLOWAY, 1982).

Àrees de carcinoma "in situ" es troben amb freqüència en associació a carcinomes d'alt grau; COOPER et al (1973) les trobaven en el 100% de les peces de cistectomia per carcinomes de grau IV. En estudis fent servir biòpsies múltiples la incidència és només entre 30 i 50% (WOLF & HOJGAARD 1983, ALGABA 1985). El significat pronòstic d'aquesta lesió queda ben demostrat en el treball d'ALTHAUSEN et al (1976), que estudia l'evolució de tumors superficials de baix grau amb carcinoma "in situ" associat, i troba que 10 de 12 casos evolucionen a carcinoma invasor.

El carcinoma "in situ" aïllat és relativament poc freqüent,

encara que es parla d'un augment en la incidència, que potser és degut a les millores en la sistemàtica diagnòstica (BRAWN 1984). Ha estat descrit no solament a bufeta urinària, sino també a pelvis renal i urèter (MURPHY et al 1974). Es una entitat debatuda degut a que el concepte de carcinoma "in situ" comporta característiques d'irreversibilitat i de progressió. La freqüència de progressió en el carcinoma "in situ" vesical no és ben coneguda, per bé que sembla que hi ha una proporció important de casos que no progressen i, fins i tot, poden regressar (KOSS 1975, PROUT et al 1983). No hi ha dubte que en l'evolució d'aquestes lesions hi intervé de forma important la reacció immunitària de l'hoste. De totes maneres, sembla clar que el temps de seguiment és el factor més important que influencia la taxa de progressió en les diferents sèries (ALGABA 1985, PROUT et al 1983). Sigui aïllat o associat a tumors, el carcinoma "in situ" suposa un risc greu de desenvolupament de carcinoma invasor, i no sembla que el tractament conservador amb quimioteràpia millori significativament el pronòstic d'aquests pacients (STANISIC et al 1987).

I.6.c) TUMORS DE VIES URINÀRIES: CARACTERISTIQUES I FACTORS PRONOSTICS

Més del 90% dels tumors humans de vies urinàries en el nostre entorn son de tipus transicional. La resta son carcinomes escamosos (3-5%) i adenocarcinomes (1%) (BRAWN 1984).

En termes simplificats es reconeixen tres patrons de creixement en els tumors de cèl.lules transicionals: Un patró papil.lar, exofític, no invasor o, com a màxim, invasor en superfície, generalment amb marges profunds arrodonits; un patró no papil.lar, que pot ser sòlid o trabecular, amb tendència a la invasió en profunditat; i un patró mixte, amb un àrea superficial papil.lar i un àrea infiltrativa en profunditat.

Tumors papil.lars: Clàssicament, s'han classificat els tumors papil.lars en graus intentant correlacionar l'aspecte microscòpic del tumor amb la seva agressivitat biològica. Atès que s'han proposat diverses classificacions diferents, farem esment principalment de la classificació de l'OMS (MOSTOFI et al 1973). En resum, aquesta proposa les següents denominacions:

Papil.loma: Tumor constituït per eixos conjuntius ben indivi-

dualitzats, recoberts per un epiteli transicional similar a l'uroteli normal, és a dir, amb menys de set capes de cèl.lules i sense atípia.

Carcinoma papil.lar transicional grau I: Tumor papil.lar revestit per epiteli amb més de set capes de cèl.lules i amb l'atípia mínima imprescindible per al diagnòstic de malignitat, afectant menys del 25% de les cèl.lules.

Carcinoma papil.lar transicional grau III: Tumor papil.lar revestit per epiteli amb atípies que afecten més del 50% de les cèl.lules.

Carcinoma papil.lar transicional grau II: Tumor papil.lar de característiques intermèdies entre els graus I i III.

Encara que la funció d'aquesta classificació és la d'unificar les ja existents i, per tant, és deliberadament inconcreta, una anàlisi mínimament crítica revela algunes insuficiències:

L'aplicació de la definició de papil.loma redueix a un nombre molt petit, gairebé anecdòtic, els tumors als quals es pot aplicar aquesta denominació (MOSTOFI et al 1973, KOSS 1975, JORDAN et al 1987). No resten definits els tumors que, malgrat estar revestits per un uroteli hiperplàsic, és a dir, de més

de set capes de cèl.lules, no mostren l'atípia mínima exigible per al diagnòstic de carcinoma. Hi ha una tendència a classificar aquests tumors sempre com a carcinomes, basada en la idea de que els tumors papil.lars son recidivants i tendeixen a augmentar de grau a través de les diferents recidives, fins que esdevenen biològicament agressius (KOSS 1975). Els estudis experimentals de KUNZE (1979) abonen aquesta teoria. Posteriorment, però, l'evolució dels coneixements en aquest camp ha demostrat que la majoria dels carcinomes invasors ho son d'entrada, i no tenen història prèvia de tumors papil.lars (KOSS 1979, BRAWN 1982). En aquest context, doncs, no hi ha raó per a anomenar carcinomes tumors que no presenten característiques histològiques de malignitat. Les possibles recidives son, en tot cas, originades en altres zones de l'uroteli i, per tant, independents del tumor inicial (BRAWN 1984).

A part d'aquestes consideracions, la gradació dels tumors és altament influida per criteris subjectius, especialment en allò que respecta a la consideració d'atípia pròpia de malignitat, i a la proporció de cèl.lules malignes. Això suposa uns índexs de coincidència baixos, no solament entre diferents observadors, sino també entre diferents observacions per un mateix individu (OOMS et al 1983, COLPAERT et al 1987). Com a conseqüència, les xifres d'incidència proporcional dels

diferents graus de tumors papil.lars varien considerablement d'unes sèries a altres. Tot i amb això, sempre hi ha una bona correlació entre el grau del tumor i altres característiques, com son la morfologia i el nivell d'invasió (KOSS 1975, KERN 1984, ALGABA 1985, JORDAN et al 1987). Això és cert també per als tumors de pelvis renal (GRABSTALD et al 1971, MAHADEVIA et al 1983, DAVIS et al 1987).

Tumors no papil.lars: La majoria dels tumors que envaeixen profundament la paret de la bufeta urinària son de morfologia sòlida o trabecular; citològicament son de grau II o III, encara que aquesta distinció no té utilitat pràctica. En aquests tumors és freqüent observar diferenciació escamosa, fet que ha estat considerat per alguns com un índex de mal pronòstic (BRAWN 1984, STROBEL et al 1984). De fet, aquesta característica apareix també en els carcinomes papil.lars invasors. Així mateix, en tots els tipus de tumors transicionals és freqüent observar estructures adenoides amb formació de moc, les quals no tenen significació pronòstica. Menys freqüent és la presència de diferenciació adenocarcinomatosa amb característiques evidents de malignitat. Els carcinomes escamosos purs i els adenocarcinomes son poc freqüents en les vies urinàries.

L'estadi d'extensió, tant en els tumors papil.lars com en els

no papil·lars, es de gran valor pronòstic en relació amb la supervivència. En la bufeta urinària, es fan servir dos sistemes d'estadiatge relativament similars. En pelvis renal no hi ha un sistema unificat, per bé que la supervivència es correlaciona bé amb el nivell d'invasió (GRABSTALDT 1971, DAVIS et al 1987, Mc CARROW et al 1982).

A més a més del grau del tumor, l'estadi d'extensió i les alteracions de l'uroteli no tumoral, altres factors relacionats amb el pronòstic són les dimensions del tumor i la multicentricitat. Estudis recents semblen indicar que el grau del tumor té un valor predictiu respecte a l'evolució superior als altres factors (JORDAN et al 1987, TORTI et al 1987). De cara al tractament individualitzat de cada pacient, però, l'ús combinat de tots aquests factors ha d'oferir una major capacitat predictiva i una millor elecció de la conducta terapèutica.

Amb aquesta perspectiva, l'Anatomia Patològica ha de progressar en la seva aportació en dos punts fonamentals:

. La millor definició dels graus dels tumors en relació amb la seva evolució.

. La determinació de la capacitat precursora de les alteracions de l'uroteli pla.

L'aprofondiment en aquestes qüestions es porta a terme actualment mitjançant noves tècniques:

- Morfometria: L'aplicació de tècniques morfomètriques ha d'ajudar a precisar els criteris per a la diferenciació dels diferents graus dels tumors (COLPAERT et al 1987). Un estudi recent ha proposat la diferenciació d'un subgrup més agressiu en els carcinomes de grau I, en base a dades obtingudes mitjançant tècniques d'anàlisi d'imatge (DE TORRES 1988). Es d'esperar que resultats similars es puguin obtenir amb l'anàlisi de les lesions preneoplàsiques (SANCHEZ et al 1988).

- Citometria de flux: La citometria de flux s'aplica a l'estudi del contingut de DNA nuclear tenyit amb Feulgen o Taronja d'acridina. Es pot practicar amb teixit desparafinat, i d'aquesta manera es pot correlacionar bé la ploidia nuclear amb el grau histològic dels tumors urotelials (MURPHY et al 1986). També es demostra aquesta correlació en les lesions de l'uroteli pla (HOFSTATDTER et al 1986). Queda per demostrar, però, que aquesta tècnica permeti una classificació més precisa i predictiva que la gradació amb microscopia òptica. En canvi, s'ha demostrat la utilitat de la tècnica per a millorar la sensibilitat de la citologia urinària en la detecció de cèl.lules neoplàsiques, en el curs del seguiment

de malalts tractats per carcinoma urotelial (BADALAMENT et al 1987, TETU et al 1987).

- Antígens relacionats amb els grups sanguinis: Diversos grups antigènics determinats per diferents oligosacàrids son presents en la superfície dels eritròcits i de cèl.lules de diversos teixits i òrgans humans en condicions normals. En l'uroteli, mereixen especial atenció els sistemes ABH i Lewis, i l'antigen T (Thomsen-Friedenreich). En general, s'expressen de diferent manera en els teixits fetals, adults, i neoplàsics (COON & WEINSTEIN 1986, CORDON-CARDO et al 1986). Es ben coneguda la correlació entre la delecció dels antígens ABH en tumors vesicals superficials i el desenvolupament posterior de carcinomes invasors. Malgrat això, la heterogeneïtat de l'expressió antigènica dintre del mateix tumor, i l'existència de nombroses excepcions a la regla general, no han permès l'aplicació pràctica d'aquestes determinacions (COON & WEINSTEIN 1986). D'altra banda, tot i que hi ha una bona correlació entre l'expressió d'antígens ABH i altres amb el grau del tumor, tant en quant a l'intensitat com a la distribució de les reaccions (ORNTOFT et al 1987), no hi ha evidència encara de que l'expressió dels antígens ABH es correlacioni amb l'evolució millor que la gradació amb microscopia òptica.

Les alteracions de l'expressió d'antígens en la mucosa plana es correlacionen també amb el grau d'atípia nuclear. És interessant destacar que en mucosa histològicament normal associada a carcinoma "in situ" i tumors de diferent grau s'han trobat també alteracions d'aquest tipus (WEINSTEIN et al 1979, COON et al 1985, BORGSTROM et al 1986). La funció d'aquests antígens en la cèl.lula estaria relacionada amb la regulació del comportament cel.lular i el reconeixement de determinats factors externs; aquestes funcions recorden les que indicàvem al parlar dels gens de la família "ras", implicats en la carcinogènesi urinària. És temptador pensar que determinades alteracions en gens relacionats amb aquestes funcions es podrien detectar abans que es produïssin alteracions morfològiques, constituint marcadors precoços de la transformació neoplàsica. De moment, però, no disposem d'estudis que correlacionin aquestes alteracions de l'expressió antigènica de l'uroteli pla amb l'evolució posterior dels malalts; el seu significat biològic, per tant, ens és desconegut.

- Altres marcadors tumorals: Encara que diversos autors han proposat diversos marcadors d'antígens de superfície del càncer urotelial com a específics d'aquest tipus de neoplàsia, és a dir, que no son presents en l'uroteli normal ni en altres

teixits (FRADET et al 1984, GROSSMAN et al 1983, TAKAHASHI et al 1987), no disposem encara d'un marcador específic prou comprobat. Altres marcadors, però, continuen oferint possibilitats a l'investigació:

L'antigen polipeptídic tisular (TPA) és un marcador tumoral inespecífic que es va aïllar a partir de les membranes de carcinomes humans. Es troba elevat en sèrum i orina en els malalts de càncer de bufeta, i els seus nivells es correlacionen bé amb l'evolució de la malaltia (KUMAR et al 1981, CARBIN et al 1987). Es un antigen relacionat amb queratines acídiques de baix pes molecular (WEBER et al 1984), i és present en l'uroteli normal i neoplàsic (NATHRAT et al 1985, CARBIN et al 1987). Per bé que algunes d'aquestes citoqueratines semblen alterar la seva distribució en relació amb la progressió dels carcinomes urotelials (RAMAEKERS et al 1985), això no ha estat observat en estudis amb TPA (CARBIN et al 1987). En canvi, un altre marcador epitelial d'ampli espectre, l'antigen de membrana epitelial (EMA), que en condicions normals es troba només en la membrana superficial de l'uroteli (CORDON-CARDO et al 1987, SLOANE & ORMEROD 1981), s'expressa de forma més general en el citoplasma en els tumors urotelials, i amb més intensitat en els invasors (SLOANE & ORMEROD 1981, PINKUS & KURTIN 1985); no hi ha fins ara estudis amb aquests marcadors

que permetin pensar que aquestes alteracions es puguin trobar també en l'uroteli preneoplàsic.

L'antígen carcino-embrionari (CEA) és un marcador tumoral poc útil en el càncer urològic perquè els seus nivells augmenten també en processos inflamatoris. La detecció en teixit del CEA ha donat resultats contradictoris i necessita investigacions addicionals (SHEVCHUK et al 1981, JAUTZKE & ALTENAEHR 1982).

II - JUSTIFICACIO

I

OBJECTIUS

II.1. JUSTIFICACIO DEL TEMA

La utilitat dels models de carcinogènesi fent servir animals d'experimentació es fonamenta, no solament en la demostració de l'efecte carcinogènic de determinades substàncies presents en el medi ambient, sinó també en la possibilitat d'estudiar els mecanismes biopatològics del desenvolupament dels tumors, per tal d'intentar comprendre millor la història natural del procés neoplàsic en l'home. Un model experimental ha de ser, en conseqüència, reproduïble i rendible; ha de permetre obtenir una quantitat suficient de tumors, i cal que aquests siguin prou similars als tumors humans per a que es puguin establir comparacions.

Les nitrosamines son substàncies ubíques en el medi ambient i probablement estàn relacionades amb diferents formes de càncer humà. La seva acció carcinogènica depèn de la formació, dintre de l'organisme, de metabòlits actius capaços d'alquilar els àcids nucleics. En aquest sentit, una de les rutes metabòliques més ben estudiades és la beta-oxidació de les dialquini-trosamines. L'estudi de diferents derivats per beta-oxidació permet definir especificitats d'òrgan dintre de l'ample espectre carcinogènic de les nitrosamines. Entre aquests derivats, la 2,2-dihidroxipropilnitrosamina i la 2,2-dioxopropilnitrosamina havien mostrat ja un cert tropisme per les vies

urinàries. L'alta incidència de tumors de vies urinàries obtinguda en rates Sprague-Dawley tractades amb 2,2-dioxo-din-propilnitrosamina, un d'aquests metabòlits beta-oxidats, es el punt de partença i la motivació bàsica d'aquesta tesi.

Per tal d'establir la seva utilitat com a model experimental, és precís reconèixer les principals incògnites i dificultats que presenta la patobiologia del càncer de vies urinàries humà. Dos dels reptes fonamentals amb que s'enfronta l'oncologia urològica es relacionen amb la prevenció de les recidives tumorals i la prevenció del carcinoma invasor.

Entre els factors que semblen influir significativament en l'evolució dels tumors de vies urinàries cal destacar els següents:

- La morfologia macroscòpica del tumor, les dimensions, la localització, i la multifocalitat.
- El grau histològic.
- El nivell d'invasió.
- L'existència de lesions preneoplàsiques: displàsia i carcinoma "in situ", aïllades o associades a tumors.
- Les alteracions funcionals de les cèl.lules tumorals; principalment en quant a l'expressió dels antígens dels grups sanguinis.

En la consideració dels tumors superficials, el grau histològic, les lesions preneoplàsiques i l'estudi dels antígens dels grups sanguinis tenen especial importància:

Tant el grau histològic dels tumors com les lesions preneoplàsiques presenten problemes de reproduïbilitat entre diferents sèries, degut a la dificultat d'establir criteris unànims de classificació. El carcinoma "in situ", en canvi, és una lesió ben definida, per bé que la seva identificació és generalment acompanyada de la d'un carcinoma invasor, i per tant la seva importància quant a prevenció es limita a un nombre relativament reduït de casos.

Per la seva banda, l'estudi dels antígens del sistema ABH, en diversos treballs ofereix uns resultats molt significatius. Les dificultats d'interpretació han fet que la utilització d'aquestes tècniques es consideri de rendibilitat dubtosa.

Diversos marcadors tumorals en sèrum i orina, principalment CEA i TPA, han estat estudiats en relació amb els tumors de vies urinàries. La freqüència de falsos resultats positius, sobre tot associats a lesions inflamatòries, fa que actualment siguin poc considerats. Resta per establir la seva possible utilitat en l'avaluació de la transformació de l'uroteli no tumoral.

Després d'aquestes consideracions es fàcil comprendre que moltes vegades, en l'evolució dels pacients amb carcinoma de vies urinàries, es tingui només en consideració com a factors discriminatius fonamentals, desde el punt de vista anatomopatològic, el nivell d'invasió i la presència de carcinoma "in situ" en l'uroteli no tumoral. Aquests dos paràmetres son d'avaluació objectiva fàcil i d'importància pronòstica prou reconeguda. No hi ha dubte, però, que la valoració d'altres dels factors esmentats milloraria l'efectivitat terapèutica, especialment en referència als tumors superficials.

Disposar d'un model experimental que permeti estudiar aquests paràmetres de forma que es puguin comparar amb les lesions humanes oferiria un camp d'avaluació molt més ràpid i senzill que el seguiment d'àmplies sèries de pacients, sobretot quan es tracta amb tumors d'agressivitat relativament baixa que cal controlar durant un període llarg de temps.

II.2.OBJECTIUS

- Estudiar les característiques de la inducció de tumors de vies urinàries en rates Sprague-Dawley amb 2,2-dioxo-di-n-propilnitrosamina, un metabòlit intermediari en el procés d'activació de la di-n-propilnitrosamina per beta-oxidació, i relacionar la incidència de lesions amb la dosi i la durada de l'exposició al carcinògen, el sexe de l'animal, i la localització.
- Comparar la morfologia dels tumors i les lesions preneoplàsiques induïdes amb una àmplia sèrie de tumors i lesions associades de vies urinàries en l'home.
- Comparar, per mitjà de tècniques immunohistoquímiques, l'expressió de marcadors estructurals i funcionals en els tumors i les lesions preneoplàsiques del nostre model d'experimentació i en els de la sèrie humana revisada.

III - MATERIAL

I

METODES

III.1. INDUCCIO EXPERIMENTAL DE TUMORS DE VIES URINARIES

III.1.a) CARCINOGEN:

El carcinògen utilitzat en aquest experiment ha estat la 2-2-dioxo-di-n-propilnitrosamina (DOPN) (Fig 2), proporcionada pel Prof. Ulrich Mohr, director de l'Institut de Patologia Experimental de l'Escola de Medicina de Hannover (RFA), i sintetitzada pel Prof. Preussman (Deutches Krebsforschungszentrum, Heidelberg, RFA). Es tracta d'un metabòlit intermediari en el procés de beta-oxidació de la di-n-propilnitrosamina.

La di-n-propilnitrosamina (DPN) es una substància líquida estable a temperatura ambient, soluble en aigua i disolvents orgànics. Encara que no s'ha produït comercialment, ha estat trobada en quantitats importants en herbicides (fins a 190000 mcg/l en la trifuralina, i 86000 mcg/l en la isopropalina). En quantitats mínimes es troba també en el formatge, algunes begudes alcohòliques i aigües residuals (IARC 1978). La DPN és carcinogènica en animals d'experimentació; en rates i hámsters produeix tumors en diferents localitzacions, principalment fosses nasals, tracte laringobronquial, pulmó i fetge (ALTHOFF et al. 1973, REZNIK et al. 1975).

Com ja s'ha indicat en la introducció, l'activitat carcinogèn-

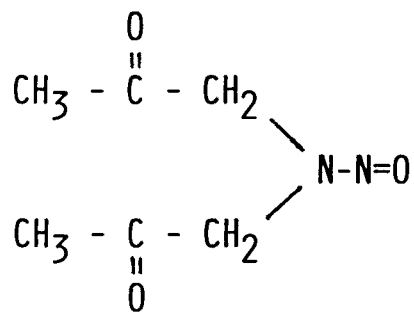
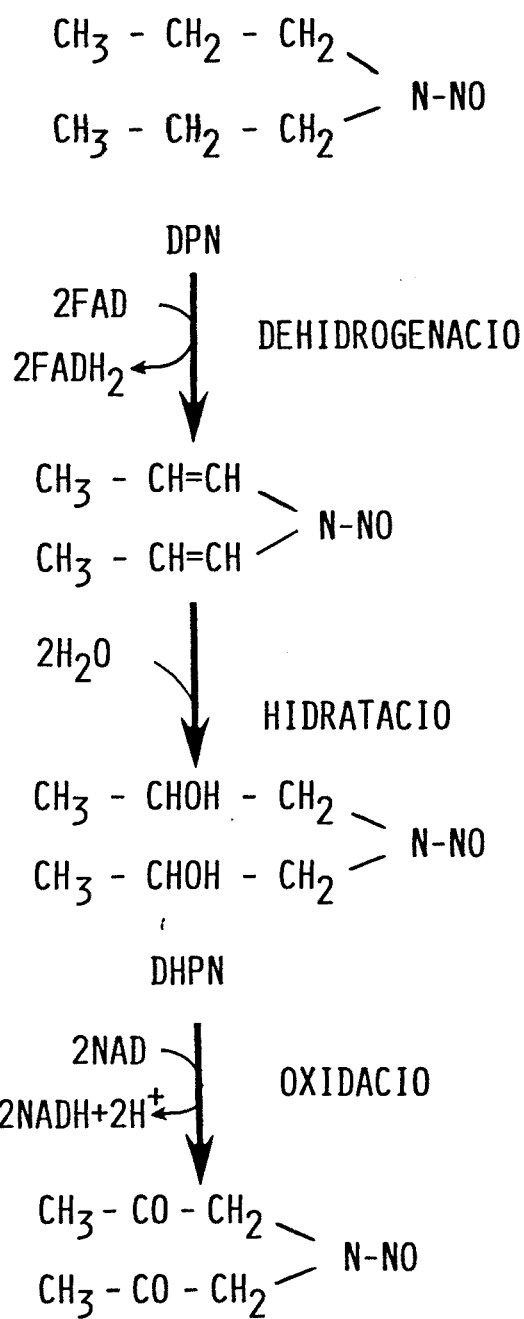


Fig 2.- 2,2-Dioxo-di-n-propilnitrosamina
(DOPN)

nica de les nitrosamines es relaciona amb l'alquilació dels àcids nucleics. En les dialquilnitrosamines, i concretament en la DPN, un procés de beta-oxidació anàleg al del metabolisme dels àcids grassos induïx una producció augmentada de 7-metilguanina. Aquest fet ha estimulat l'interès pels metabòlits intermediaris en la beta-oxidació de la DPN. Aquests han resultat potents carcinògens en animals d'experimentació, per bé que la incidència i la distribució de les neoplàsies varia segons el compost i la espècie utilitzada (ALTHOFF et al. 1973, REZNIK et al. 1975, POUR et al. 1974a, 1974b, 1979) Una incidència significativa de tumors de vies urinàries ha estat descrita en rates tractades amb, 2,2-dihidroxi-di-n-propilnitrosamina (DHPN) i amb DOPN (MOHR et al. 1977, REZNIK & MOHR 1976, POUR et al. 1979).

De moment, no hi ha dades sobre un eventual efecte carcinogènic de la DPN ni dels seus metabòlits en humans. Encara que la població general pot estar exposada a nivells baixos de DPN, no s'ha identificat un grup especialment exposat útil per a la investigació. De totes maneres, la DPN es considera en la pràctica com si fos carcinogènica per als humans (IARC 1978).

La DOPN és un metabòlit de la DPN en que els dos grups propil són oxidats (Fig 3). La via d'activació segueix amb una



DPN: DI-N-PROPILNITROSAMINA

DHPN: DIHIDROXI-DI-N-PROPILNITROSAMINA

Fig 3.- Obtenció de la Dioxo-di-n-propilnitrosamina per beta-oxidació de la Di-n-propilnitrosamina

hidròlisi no enzimàtica per formar metil-n-oxopropilnitrosamina (MOPN) o di-n-metilnitrosamina (DMN). Aquests són posteriorment oxidats en una reacció que té lloc en el reticle endoplàsmic, catalitzada per una oxigenasa dependent del citocrom P-450, amb formació d'una monometilnitrosamina, la qual és inestable, i es rearranja espontàniament en un ió metildiazoic electrofílic (Fig 4) (MILLER & MILLER 1981).

En el hámster, la DOPN és un carcinògen pancreàtic potent i selectiu (POUR et al. 1977). En rates Wistar, l'espectre d'inducció tumoral és més ample, amb producció de tumors principalment a cavitat nasal, colon, fetge, ronyó, vies urinàries, ovari i vasculars. Concretament en les vies urinàries produeix papil·lomes escamosos uretrals, i amb menys freqüència papil·lomes de cèl·lules transicionals de bufeta urinària i pelvis renal (POUR et al. 1979). En rates Sprague-Dawley ha estat descrita l'inducció amb alta incidència de tumors de fosses nasals, principalment papil·lomes i carcinomes de cèl·lules escamoses (CARDESA et al. 1984).

III.1.b) ANIMALS:

L'estudi experimental es va realitzar sobre un grup de 120

rates Sprague-Dawley de 10 setmanes d'edat (SPF, Wiga Company, Sulzfeld, RFA). L'inducció es va practicar en l'animalari de l'Institut de Patologia Experimental (Prof. Ulrich Mohr) de l'Escola de Medicina de Hannover (RFA). Els animals van ser mantinguts en condicions estàndard de laboratori (temperatura ambiental $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, humitat $50\% \pm 5\%$, renovació d'aire 20 vegades per hora). S'estaven separats per sexes i agrupats de tres en tres en gàbies Makrolon (Tipus III, E.Becker & Co., GmbH, Gastrop-Rauxel, RFA). Van rebre una dieta a base de pinso preparat en forma de "pellets" (RMH-B, Hope Farms, Woerden, Holanda) i aigua "ad libitum".

III.1.c) METODEDE:

Els animals van ser dividits en quatre grups, cada un d'ells constituït per 15 mascles i 15 femelles. A tres dels grups s'els va administrar el carcinògen (DOPN). El primer grup rebia 1/5 de la dosi letal mitjana ($LD_{50} = 123 \text{ mg/kg}$ per als mascles, 107 mg/kg per a les femelles), el segon grup rebia 1/10 de LD_{50} , i el tercer grup 1/20 de LD_{50} . Les dosis s'injectaven subcutàniament un cop la setmana durant tota la vida de l'animal. El quart grup, tractat amb ClNa, va ser mantingut com a control.

Els animals eren examinats dos cops al dia, i pesats un cop cada mes. Les rates moribundes eren sacrificades, practicant-se l'autòpsia completa en tots els casos. Finalment, els animals supervivents del grup control van ser sacrificats a les 96 setmanes de l'inici de l'experiment.

El tracte urinari (pelvis renal, urèter i bufeta urinària) va ser dissecat en tots els casos. Els ronyons van ser seccionats segons un pla frontal passant per la pelvis renal, i tramesos en la seva totalitat per a l'estudi histològic. De la mateixa manera, la bufeta urinària era seccionada en dos parts segons un pla sagital, i s'obtenien també mostres representatives de l'urèter. Les mostres eren fixades en formol al 10%, tamponat, i incloses en parafina segons el mètode habitual. Es van obtenir talls de 5 micres de gruix, que es van tenyir amb hematoxilina-eosina, PAS, Blau Alcian, Tricròmic de Masson, i Reticulina. Seccions addicionals dels casos seleccionats es van reservar per a l'estudi immunohistoquímic.

III.2. REVISIO RETROSPECTIVA DELS TUMORS DE VIES URINÀRIES HUMANS

S'han revisat tots els casos de neoplàsies de vies urinàries registrats a l'arxiu de Patologia Quirúrgica del Departament d'Anatomia Patològica de l'Hospital Clínic de la Facultat de Medicina de l'Universitat de Barcelona, compresos en el període 1976-1985. En total corresponen a 655 biòpsies i peces quirúrgiques. En vista de l'alta incidència de tumors de pelvis renal en l'estudi experimental, es va decidir ampliar la revisió de casos humans fins l'any 1988 en allò que respecta als tumors d'aquesta localització. D'aquesta manera es van incloure set peces quirúrgiques més, obtenint en total una sèrie de 20 tumors de pelvis renal.

De cada cas s'ha enregistrat el nom del pacient, l'edat i el sexe, i el tipus d'intervenció. S'han valorat separatament els casos que presentaven diverses biòpsies successives al llarg del temps de l'estudi, valorant les característiques de les lesions en relació a l'evolució posterior.

S'han fet servir per a la revisió les preparacions tenyides amb hematoxilina-eosina de l'arxiu, i en els casos que ha sigut necessari s'han practicat seccions addicionals i tincions complementàries.

III.3. CRITERIS PER A L'ESTUDI MORFOLOGIC COMPARATIU DELS TUMORS EXPERIMENTALS I HUMANS

Tant en el grup experimental com en el material humà, s'han valorat l' existència o no de tumor, el seu tipus i grau, la invasió i les diverses diferenciacions. També s'han estudiat les alteracions de l'uroteli en els casos sense tumor, i de l'uroteli no tumoral en els casos portadors de tumor.

No hi ha un sistema unitari establert per a la classificació de les lesions de vies urinàries en la rata. L'objectiu de les classificacions de tumors en l'animal d'experimentació no és el d'establir un pronòstic o un tractament, com en els humans, sinó definir les característiques de les lesions en el moment del diagnòstic (SQUIRE, 1986). De cara a l'obtenció de dades comparatives útils, però, és imprescindible fer servir els mateixos criteris de classificació tant en el material experimental com en l'humà. Per a una millor comprensió de les implicacions pràctiques de l'experiment, s'han adoptat classificacions correntment acceptades en patologia urològica humana.

III.3.a) CLASSIFICACIO DELS TUMORS:

S'ha basat fonamentalment en els criteris de l'OMS (MOSTOFI et al 1973). Així, els diferents tipus i graus s'han considerat segon les següents definicions:

- Tumors de cèl.lules transicionals: Són aquells que estan constituïts per elements similars als de l'epiteli transicional normal o displàsic, i que no mostren altres tipus de diferenciació almenys en una part significativa del tumor. Es classifiquen en:

Papil.loma de cèl.lules transicionals: S'han englobat en aquest grup els tumors exofítics suportats per un estroma vascular ramificat revestit per epiteli normal o hiperplàsic sense atípia suficient per al diagnòstic de malignitat, i sense activitat mitòtica fora de la capa basal. En el mateix grup s'han inclòs aquells creixements tumorals endofítics no invasors, sense atípies cel.lulars, que solen denominar-se com a papil.lomes invertits.

Carcinoma papil.lar de cèl.lules transicionals, grau I: Tumors exofítics, papil.lars, amb el mínim grau d'atípia suficient per al diagnòstic de malignitat (afectant a menys del 25% de

les cèl.lules), activitat mitòtica escassa, i bona preservació de la capa de cèl.lules superficials.

Carcinoma papil.lar de cèl.lules transicionals, grau III: Tumors amb creixement papil.lar almenys en part, amb atípies cel.lulars afectant a la majoria de les cèl.lules (>50%), mitosis freqüents, pèrdua de polaritat i pèrdua de la capa de cèl.lules superficials en la major part del tumor.

Carcinoma papil.lar de cèl.lules transicionals, grau II: Tumors amb creixement predominantment papil.lar, amb característiques intermèdies entre els altres dos graus.

Carcinoma de cèl.lules transicionals, no papil.lar: Tumors amb creixement invasor sòlid o trabecular, o difusament infiltrant, constituïts per cèl.lules transicionals amb grau variable d'atípia, en els que no es pot reconèixer una part significativa amb patró papil.lar exofític.

- Carcinomes no transicionals: Carcinomes invasors en els que no es pot reconèixer un origen en l'epiteli transicional en cap zona del tumor. Es classifiquen segons la seva forma de diferenciació predominant, com a carcinomes escamosos, adenocarcinomes o carcinomes indiferenciats.

- Criteris d'invasió: S'han considerat tumors invasors aquells amb patró infiltrant evident, i aquells en que s'observava clara disrupció de la membrana basal, o presència de nius de cèl.lules neoplàsiques desconectades de la base del tumor que no poguessin atribuir-se a efecte d'oblicuitat del tall ni a nius de von Brunn.

- Tipus de diferenciació: S'han considerar tres tipus bàsics de diferenciació dintre dels tumors transicionals:

Diferenciació pseudoglandular: Presència de petites llums glandulars, arrodonides, de límits nets, amb material positiu a les tincions de moc, en el si d'un tumor d'estructura clarament transicional.

Diferenciació adenocarcinomatosa: Formacions glandulars irregulars, constituïdes per cèl.lules amb atípia important, constituint una part més o menys extensa d'un tumor de cèl.lules transicionals.

Diferenciació escamosa: Arees tumorals de patró epidermoide clar, definit per la presència de queratinització i/o espines intercel.lulars visibles amb microscopia òptica.

III.3.b) CLASSIFICACIO DE LES LESIONS DE L'UROTELI NO TUMORAL:

S'han valorat les alteracions de l'epiteli superficial i dels nius de von Brunn. Les lesions s'han classificat d'acord amb les següents definicions:

- Hiperplàsia: Els criteris per a la definició d'hiperplàsia en el grup experimental es basaran en el nombre mitjà de capes cel·lulars de l'epiteli en cada localització en el grup control. Es considerarà hiperplàsia la presència d'un nombre de capes superior a la mitjana normal més dues desviacions estàndard en cada localització. En el material humà, s'ha considerat hiperplàsia l'existència de més de 7 capes cel·lulars en l'uroteli independentment de la seva localització, d'acord amb els criteris habitualment acceptats (KOSS 1979; MAHADEVIA et al 1983).

- Displàsia: Presència d'atípies de tipus neoplàsic en part de les cèl·lules de l'epiteli, sigui de gruix normal o hiperplàsic, amb conservació de la capa de cèl·lules superficials.

- Carcinoma "in situ": Presència d'atípies nuclears de tipus neoplàsic en la majoria de les cèl·lules de l'epiteli, sigui aquest de gruix normal o hiperplàsic, amb pèrdua de la major part de la capa de cèl·lules superficials.

III.4. ESTUDI IMMUNOHISTOQUIMIC

III.4.a) MARCADORS:

- Anticòs anti-TPA-B₁ (Sangtec, Bromma, Suècia): L'antigen polipeptídic tissular (TPA) és un polipèptid antigènic derivat del residu insoluble de diversos carcinomes humans. Es va produir en un intent de trobar un principi antigènic comú als carcinomes (NATHRAT et al 1985). Bioquímicament, està relacionat amb citoqueratines àcides de baix pes mol.lecular, corresponents als numeros 8,18 i 19 del catàleg de Moll (WEBER et al 1984). L'anticòs utilitzat en aquest estudi està dirigit contra la principal subunitat, el TPA-B₁, i detecta diversos polipèptids amb pes mol.lecular entre 40 i 44 Kd; entre aquests es troba la citoqueratina N° 19, la qual és present en els epitelis simples no estratificats, i també en l'epiteli transicional (COOPER et al 1985).

- Anticòs anti-EMA (Dako Co., Sta Barbara, CA, USA): L'antigen de membrana epitelial (EMA) s'obté a partir dels glòbuls grassos de la llet humana, els quals estan envoltats per una membrana procedent de la porció apical de les cèl.lules mamàries, degut a que la secreció es fa per un procés de pinocitosi inversa. Aquestes membranes resulten un immunògen molt efectiu per a la producció d'anticossos. De fet, l'EMA és

un grup de mol.lècules d'alt pes mol.lacular, amb un 50% de carbohidrats, que son els que confereixen l'antigenicitat. Característicament, l'anticòs anti-EMA reacciona amb la vessant luminal dels epitelis simples, incloent-hi l'uroteli, i en patologia tumoral és considerat un marcador de diferenciació epitelial (SLOANE & ORMEROD 1981, PINKUS & KURTIN 1985).

- Anticòs anti-CEA (Dako Co., Sta. Barbara, CA.USA) : L'antigen carcinoembrionari (CEA) és un antígen oncofetal, és a dir, un antígen associat a tumors que també es troba present en teixits fetals. Inicialment es va demostrar en teixit endodèrmic fetal i en tumors del tracte gastrointestinal (HUITRIC et al 1976). Els nivells de CEA estan elevats en el sèrum de pacients amb diferents tipus de càncer, i es pot identificar l'antigen en els teixits de tumors de localitzacions diverses (REYNOSO et al 1972, PASCAL et al 1977, SHEVCHUK et al 1981, JAUTZKE & ALTENAEHR 1982).

- Lectina UEA-I (Vector Lab. Burlingame, CA. USA): Les lectines son substàncies proteiques, moltes d'elles d'origen vegetal (fitoaglutinines) que, tot i no tenir un origen immunitari, presenten activitat d'anticòs i tenen la propietat de fixar-se a diversos carbohidrats. En aquest estudi s'ha fet

servir l'aglutinina I purificada de l'*Ulex Europaeus*, una planta papilionàcia pròpia de climes atlàntics. Aquesta lectina és habitualment utilitzada per detectar els carbohidrats constituents de l'antigen H dels grups sanguinis, que es troba en la superfície dels eritròcits i de molts altres teixits del cos.

III.4.b) MATERIAL EXPERIMENTAL PER A L'ESTUDI IMMUNOHISTOQUÍMIC:

Es van seleccionar per a l'estudi 10 mostres de tumors corresponents a 9 animals, i una mostra d'uroteli normal de la bufeta urinària corresponent a un animal del grup control. Els tumors eren un papil·loma, tres carcinomes de grau I, cinc de grau II i un de grau III. Eren localitzats a pelvis renal (6), urèter (1) i bufeta urinària (3). La selecció dels casos es va basar en la bona conservació i en l'existència d'uroteli no tumoral valorable.

III.4.c) MATERIAL HUMÀ PER A L'ESTUDI IMMUNOHISTOQUÍMIC:

Es van seleccionar 30 mostres corresponents a 29 pacients. Inclouen 16 lesions no invasores i 14 carcinomes invasors, agrupats de la següent manera:

Grup A: Set casos de tumors no invasors en els quals biòpsies posteriors al llarg d'un mínim de tres anys no van demostrar existència de carcinoma invasor.

Grup B: Cinc casos de tumors no invasors en els quals alguna biòpsia posterior va demostrar un carcinoma invasor. (Casos 1 al 5 de la taula 16).

Grup C: Quatre casos de tumors no invasors sense seguiment.

Grup D: Sis casos de carcinomes papil·lars invasors.

Grup E: Vuit casos de carcinomes no papil·lars invasors. El cas 1 d'aquest grup conté simultàniament un carcinoma papil·lar de grau I i un carcinoma invasor no papil·lar; correspon al mateix pacient que el cas 1 del grup B (Taula 21).

Les mostres corresponien a pelvis renal (3 casos: C4, D2, E2), urèter (1 cas: C3) i bufeta urinària (26 casos). La selecció dels casos es va basar en la bona conservació i la presència d'uroteli no tumoral valorable en la mostra.

III.4.d) METODE IMMUNOHISTOQUIMIC:

La tècnica utilitzada per a l'estudi immunohistoquímic ha estat la del complex avidina-biotina-peroxidasa (ABC) (HSU et al 1981). Seccions de 5 micres, prèvia desparafinització, bloqueig de la peroxidasa endògena amb una solució de H_2O_2 al 3% en alcohol metílic, i hidratació amb alcohols decreixents, són tractades amb l'antisèrum primari específic. Posteriorment es tracten amb sèrum biotinat perquè anti-IgG de conill (Vectastain) diluït 1:20 en PBS (sèrum tampò fosfat), durant 30 minuts. A continuació, les seccions s'incuben durant 30 minuts amb el complex avidina-biotina-peroxidasa (Vectastain). La localització dels anticossos en el teixit es determina per una reacció de la peroxidasa amb una solució de diaminobenzidina-4ClH, TRIS pH 7,6 i H_2O_2 al 3%. Finalment les seccions es contrasten amb hematoxilina i es monten segons la tècnica habitual.

L'anàlisi immunohistoquímica fent servir la lectina UEA-I es realitza de la següent manera: Després d'incubar les seccions desparafinades durant 2 hores amb la lectina, es renten amb PBS i s'incuben durant 24 hores amb anticossos de conill anti-UEA-I (Dako). A continuació s'aplica el sèrum biotinat perquè anti-conill; la resta del procediment és idèntic al descrit abans.

III.5. VALORACIO I ANALISI DELS RESULTATS

Les dades quantitatives amb tendència a la distribució normal (supervivència, edat, nombre de capes de l'epiteli) s'expressen indicant els valors extrems i la mitjana. Les dades referents a incidència de lesions s'expressen en valor absolut i tant per cent.

En l'estudi immunohistoquímic s'ha valorat la intensitat i la localització de les reaccions en els diferents casos, tant en els tumors no invasors com en àrees invasores i no invasores dels carcinomes invasors, i en l'uroteli no tumoral quan aquest era visible.

La intensitat de la reacció s'ha valorat de manera semiquantitativa, en cinc graus:

- negatiu.

± positivitat mínima.

+ positivitat lleu o limitada a menys del 25% de les cèl.lules.

++ Positivitat moderada difusa o intensa en menys del 50% de les cèl.lules.

+++positivitat intensa en més del 50% de les cèl.lules.

La distribuci6 de les àrees positives en les diferents lesions s'ha classificat de la següent manera.

- (A) Reacci6 positiva limitada a cèl.lules superficials o preferentment superficial.
- (B) Limitada a cèl.lules basals o preferentment basal.
- (C) Focal, o difusa només en algunes zones.
- (D) Difusa.
- (E) Irregular.

L'estudi de la incidència de tumors en relaci6 amb les diferents variables (dosi del carcin6gen, sexe, localitzaci6, invasi6, característiques morfol6giques) s'ha realitzat mitjançant taules de contingència, aplicant el test del Chi quadrat complementat amb la prova de variables excloents quan ha estat necessari. S'ha considerat significaci6 estadística una p inferior a 0,05.

IV - R E S U L T A T S

IV. 1. ESTUDI EXPERIMENTAL

IV.1.a) HISTOLOGIA DE LA MUCOSA NORMAL DE LES VIES URINÀRIES EN LA RATA:

La valoració de l'uroteli normal es va fer sobre els animals del grup control. Aquest grup constaba de 30 animals, dels quals 28 -14 mascles i 14 femelles- van resultar valorables per a l'estudi. Els altres dos es van excloure degut al grau excessiu d'autolisi post-mortem.

-Pelvis renal: La mucosa de la pelvis renal està constituïda en part per un epitel·li cúbic monoestratificat que es continua amb l'epitel·li de les papil·les i dels túbuls col·lectors, i que augmenta progressivament el nombre de capes al llarg de la zona infundibular en direcció a la unió pielo-ureteral. La medició del gruix màxim de capes de l'epitel·li en cada animal d'aquest grup va resultar en una mitjana de 3,44 (desviació estàndard: 0,91). Quan s'observa estratificació, l'epitel·li és característicament de tipus transicional, amb una capa de cèl·lules superficials ben diferenciada, i una o més capes de cèl·lules cúbiques més o menys aplanades, sense diferenciar-se clarament una capa basal i una capa intermèdia. S'aprecia una làmina basal rectilínia, separada de la capa muscular per una mínima quantitat de teixit conjuntiu (Fig 5).

- Urèter: Està revestit per un epiteli de dues a quatre capes de cèl.lules, amb un gruix màxim mitjà de 3,40 (desviació estàndard: 0,69). Es de tipus transicional, amb una capa de cèl.lules transicionals grans i una o més capes profundes amb cèl.lules cúbiques. El teixit conjuntiu subepitelial és relativament abundant, formant un plegament de la mucosa que confereix una forma estrellada a la llum ureteral.

- Bufeta urinària: L'aspecte de l'uroteli en la bufeta urinària varia notablement depenent del grau de distensió de la llum. En estat de distensió, el gruix de l'epiteli és d'una o dues capes de cèl.lules aplanades, que poden arribar a ésser quatre en la bufeta contraïda (Fig 6). La mitjana de les medicions del gruix màxim ha resultat en 2,59 (desviació estàndard: 0,74). Quan s'observen més de dues capes, les cèl.lules superficials tenen la forma característica en umbrel·la, mentre que a les capes profundes són cúbiques, i sovint tenen el citoplasma clar, d'aspecte vacuolat. Igual que en els altres trams del tracte urinari, no s'observen diferències entre la capa basal i la intermèdia. El teixit conjuntiu subepitelial és abundant, i amb la bufeta en estat de contracció la mucosa forma plecs molt pronunciats, que per efecte de tall donen l'impressió d'unir-se entre ells, compartimentant la llum vesical (Fig 7).

IV. 1.b) TUMORS INDUITS:

- Incidència: Dels 90 animals corresponents als grups experimentals, 11 van ser exclosos al no disposar de material valorable per a l'estudi de les vies urinàries, en general degut a excessiva autolisi post-mortem. Dels 79 restants, 42 van desenvolupar tumors en alguna localització del tracte urinari. La relació entre dosi, sexe, supervivència desde l'inici de l'experiment, animals portadors de tumors en les vies urinàries i en les diferents localitzacions (pelvis renal, urèter i bufeta urinària), s'expressen en la taula 2. La correlació entre dosi del carcinògen i incidència de tumors ha resultat estadísticament significativa ($p < 0,05$).

- Supervivència: Atès que els animals van ser sacrificats quan eren moribunds, la supervivència indica el nivell de toxicitat del carcinògen. Així, la supervivència va ser més curta en els animals tractats amb les dosis més altes. En tots els grups, la supervivència de les femelles va ser superior a la dels mascles (Taula 2). En la taula 3 es reflecteix la supervivència dels animals dels grups experimentals, així com les lesions induïdes en cada un d'ells.

- Sexe: Les femelles van desenvolupar més tumors que els

T A U L L A 2 - I N D U C C I O D E T U M O R S D E V I E S U R I N A R I E S
E N R A T E S S P R A G U E - D A W L E Y A M B D O P N

Dosi mg/kg	N.d'animals	Sexe	Supervivència mitjana (setmanes)	Supervivència en APT (setmanes)	Vies Urinaris APT Nº %	Pelvis renal APT Nº %	Urèter APT Nº %	Bufeta Urinaría APT Nº %
24,6	11	M	42	(37-48)	9 82	8 73	2 18	5 45
1/5 DL ₅₀								
21,4	13	F	49	(37-55)	13 100	13 100	3 25	8 61,5
12,3	14	M	51	(46-64)	4 29	4 29	1 7	2 14
1/10 DL ₅₀								
10,7	14	F	58	(49-75)	10 71	7 50	3 21	3 21
6,15	13	M	63	(56-61)	2 15	2 15	-	-
1/20 DL ₅₀								
5,35	14	F	67	(46-84)	4 29	4 29	1 7	-
Control	14	M	86	-	-	-	-	-
	14	F	84	-	-	-	-	-

DL₅₀ : Dosi letal mitjana.

APT : Animals portadors de tumor.

mascles en totes les localitzacions i en tots els grups. En conjunt, la diferència és estadísticament significativa ($p < 0,05$).

En el grup de dosi més elevada, totes les femelles eren portadores de tumors. Dos dels mascles d'aquest grup no van desenvolupar tumors; aquests dos animals no van sobreviure més enllà de 38 setmanes. En conseqüència, tots els animals d'aquest grup que van sobreviure més de 38 setmanes (19 de 24) eren portadors de tumors.

- Localització: En tots els grups, els tumors van ser més freqüents a pelvis renal que a bufeta urinària. En conjunt, la diferència ha resultat altament significativa ($p < 0,001$). Les dades corresponents a urèter no son comparables degut a que aquest òrgan no va ser estudiat de forma seriada. En el grup de dosi màxima totes les femelles i el 73% dels mascles (entre ells tots els que van sobreviure més enllà de la setmana 38) presentaven tumors a la pelvis renal. El 58% dels animals d'aquest grup van desenvolupar tumors vesicals. No es van trobar tumors a bufeta urinària en el grup de dosi més baixa; els escassos tumors induïts en aquest grup es localitzaven a pelvis renal (6) i urèter (1).

- Classificació histològica: La majoria dels tumors induïts

eren papil·lars. Les dimensions variaven desde tumors incipients en forma de petites excrecències nodulars amb eixos conjuntius poc desenvolupats (Fig 8), fins a grans tumors arborescents que ocupaven la major part de la llum (Figs 9 i 10), especialment a pelvis renal. Els tumors pièlics tenien tendència a localitzar-se en la zona infundibular, i amb freqüència provocaven hidronefrosi (Fig 11). El tipus cel·lular era bàsicament transicional; només es va identificar un cas de carcinoma escamós pur. L' atípia cel·lular era més freqüent i més important en els tumors més grossos, per bé que ocasionalment s'observaven atípies pròpies de carcinoma en tumors molt incipients. Dintre d'un mateix tumor era possible observar àrees amb diferent grau d'atípia.

En la taula 4 s'expressa la classificació histològica dels tumors en relació a la localització. Els tumors predominants eren papil·lomes i carcinomes papil·lars transicionals de grau I i II (Figs 12,13,14). Només es van identificar dos carcinomes no papil·lars, incloent-hi el carcinoma escamós de bufeta urinària. Els tumors de grau més alt eren localitzats fonamentalment a pelvis renal. Més del 80% dels tumors induïts a bufeta urinària i urèter eren de baix grau (papil·lomes y carcinomes de grau I). La major part dels tumors d'alt grau apareixien en el grup de dosi més alta. En aquest grup, 12

TAULA 4 - CLASSIFICACIO DELS TUMORS INDUITS
EN RATES SPRAGUE-DAWLEY

LOCALITZACIO	APT	PAPIL.LOMA	CA.PAPIL.LAR TRANSICIONAL			CA. INVASOR NO PAPIL.LAR	CARCINOMA ESCAMOS
			GRAU I I NI	GRAU II I NI	GRAU III I NI		
BUFETA URINARIA	18	9	- 5	3 -	- -	-	1
URETER	10	8	- 1	1 -	- -	-	-
PELVIS RENAL	38	8	- 11	10 6	2 -	1	-

I: Invasor NI: No invasor APT: Animals portadors de tumor.

dels 22 animals amb tumor tenien carcinomes de grau II o superior en alguna localització. Tots els carcinomes de grau III i no papil·lars es van desenvolupar en femelles d'aquest grup. En el conjunt de l'experiment, els papil·lomes i carcinomes de grau I van aparèixer amb una freqüència significativament superior que els carcinomes de grau més alt ($p < 0,05$).

Multifocalitat: Dinou dels 42 animals amb tumor en presentaven més d'un en localitzacions diferents (Figs 15 i 16); sis d'ells tenien tumors a pelvis renal, urèter i bufeta urinària. Aquest fenomen va ser més freqüent en el grup de dosi més alta (Taula 5). En la taula 5b s'especifiquen les associacions de tumors multicèntrics segons el seu grau. S'observa una gran diversitat de grau entre els tumors de localitzacions diferents en un mateix animal. Tant a pelvis renal com a bufeta urinària s'observaven amb freqüència diversos tumors, que habitualment, però no sempre, eren de grau histològic similar.

- Invasió: Dels 42 animals portadors de tumor, 16 (38%) van desenvolupar tumors invasors en una o més localitzacions. Proporcionalment, el grup de dosi més alta és el que va mostrar més incidència de tumors invasors. Proporcionalment,

TAULA 5 - ESTUDI EXPERIMENTAL:

TUMORS MULTIFOCALS - a) RELACIO AMB LA DOSI

DOSI	1 LOCALITZACIO			2 LOCALITZACIONS			3 LOCALITZACIONS		
	TOTAL	PR	V BU	TOTAL	PR-U	PR-BU	U-BU	PR-U-BU	
1/5 LD ₅₀	9	8	- 1	9	1	8	-	4	
1/10 LD ₅₀	10	7	2 1	2	-	2	-	2	
1/20 LD ₅₀	5	5	- -	1	1	-	-	-	

PR: Pelvis renal, U: Urèter, BU: Bufeta urinària

TUMORS MULTIFOCALS -b) ASSOCIACIONS TUMORALS

	P	CPT GI	CPT GII	CPT GIII	CNP	CE
P	4	4	6	1	1	-
CPTGI	4	2	2	1	-	-
CPTGII	6	2	2	-	1	1
CPTGIII	1	1	-	-	-	-
CNP	1	-	1	-	-	-
CE	-	-	1	-	-	-

P: Papil.loma CPT: Carcinoma papil.lar transicional

CNP: Carcinoma no papil.lar CE: Carcinoma escamós

L' incidència de tumors invasors és més alta en els mascles que en les femelles (Taula 6). Aquestes diferències, però, no han resultat estadísticament significatives. Del conjunt dels 66 tumors induïts, 18 (27%) eren invasors. L'incidència més alta de carcinoma invasor es va donar en la pelvis renal (Taula 7). Quant als carcinomes papil·lars, tots els de grau I eren no invasors, i els de grau III eren invasors. Catorze dels vint carcinomes de grau II (70%) eren invasors (Taula 4). La majoria dels tumors invasors es van desenvolupar en els animals de supervivència més llarga, excepte en el grup de dosi més baixa, a on els dos carcinomes invasors van aparèixer en animals que van morir en el període mitjà de la seva esperança de vida (Taula 3).

- Diferenciació escamosa i glandular: La diferenciació adenoide o pseudoglandular més o menys extensa era molt freqüent en tumors papil·lars de tots els graus (Fig 14). En canvi, només es va trobar un tumor amb àrees de diferenciació glandular maligna, tipus adenocarcinoma.

La diferenciació escamosa va ser molt freqüent, observant-se en 16 dels 66 tumors induïts (24%) (Taula 8). Amb molta freqüència era de tipus queratinitzant, i ocasionalment es produïen acúmuls de queratina omplint la llum de pelvis renal

TAULA 6 - ESTUDI EXPERIMENTAL
 PROPORCIO DE TUMORS INVASORS I
 NO INVASORS SEGONS LA DOSI I EL SEXE

		INVASOR		NO INVASOR	
		Nº	%	Nº	%
DOSI	1/5 DL ₅₀	10	45	12	55
	1/10 DL ₅₀	4	29	10	71
	1/20 DL ₅₀	2	33	4	67
SEXE	M	7	47	8	53
	F	9	33	18	67

TAULA 7

ESTUDI EXPERIMENTAL : PROPORCIO DE TUMORS INVASORS I
NO INVASORS SEGONS LA LOCALITZACIO

	BU	U	PR
TUMORS INVASORS	4 (22%)	1 (10%)	13 (34%)
TUMORS NO INVASORS	14 (78%)	9 (90%)	25 (66%)

BU: bufeta urinària U: urèter PR: Pelvis renal

o bufeta urinària (Fig 17). Encara que es va trobar en relació amb tots els tipus tumorals, era especialment freqüent en els carcinomes papil·lars de grau II; en alguns tumors, la diferenciació escamosa era extensa i predominava sobre el component transicional. El 50% dels tumors invasors contenien àrees de diferenciació escamosa, mentre que això passava només en el 15% dels no invasors (diferència estadísticament significativa $p < 0,005$). En molts casos, però no en tots, l'invasió es relacionava directament amb les àrees de carcinoma escamós (Fig 18).

En dos carcinomes papil·lars de pelvis renal es va observar metaplàsia òssia d'aspecte benigne en l'estroma tumoral (Fig 19).

IV. I.c) LESIONS PRENEOPLASIQUES

La taula 9 indica les alteracions de l'uroteli en els animals que no van desenvolupar tumors. La presència d'hiperplàsia va ser freqüent tant a pelvis renal com a bufeta urinària. Un dels animals del grup control mostrava també hiperplàsia urotelial en aquestes localitzacions. En la taula 3 s'hi expressen també les característiques de l'uroteli en cada localització quan en aquesta no hi havia tumor, independent-

TAULA 8 - ESTUDI EXPERIMENTAL:
DIFERENCIACIO ESCAMOSA I GLANDULAR SEGONS
LES CARACTERISTIQUES DEL TUMOR I LA LOCALITZACIO

		DIFERENCIACIO ESCAMOSA	DIFERENCIACIO GLANDULAR
TUMOR	P	1 (4%)	
	CPT GI	5 (29%)	
	CPT GII	9 (45%)	
	CPT GIII	1 (50%)	
	CNP		1
	=====		
	INVASOR	9 (50%)	
NO INVASOR	7 (15%)		
LOCALITZACIO	PELVIS RENAL	12 (32%)	1
	URETER	-	
	BUFETA URINARIA	4 (22%)	

ment de la presència o no de tumor en altres localitzacions del mateix animal. Aquesta taula no demostra una relació de precedència entre les lesions hiperplàsiques i els tumors en una localització determinada. Amb la dosi més baixa, a més a més, crida l'atenció la freqüència d'animals sense hiperplàsia fins a etapes avançades de l'experiment.

En els animals dels grups experimentals, i especialment en els del grup de dosi més alta, l'epiteli hiperplàsic, i de vegades el no hiperplàsic, mostrava nuclis hiperactius, més grossos i amb cromatina més granular, que en l'uroteli normal del grup control. Els citoplasmes, però, solien estar també eixamplats, i l'estructura de l'epiteli es conservava (Fig 20). En absència de tumor, en cap cas es va observar atípia suficient o prou alteració de l'estructura per considerar el canvi com a diferent del que podrien ser només canvis reactius. Fins i tot en continuïtat amb tumors amb important grau d'atípia les lesions hiperplàsiques la majoria de les vegades no eren atípiques.

En la taula 10 es relacionen les alteracions de l'uroteli no tumoral amb el tumor de grau més alt induït en el mateix animal. Pràcticament tots els animals amb tumor presentaven canvis d'hiperplàsia de l'uroteli no tumoral. Les lesions

TAULA 9 - LESIONS PRENEOPLASIQUES. ANIMALS SENSE TUMOR

DOSI	NOMBRE D'ANIMALS	PELVIS RENAL		URETER		BUFETA URINARIA	
		H	D	H	D	H	D
1/5 LD ₅₀	2	1	-	-	-	-	-
1/10 LD ₅₀	14	6	-	1	-	8	-
1/20 LD ₅₀	21	4	-	2	-	5	-
Control	28	1	-	-	-	1	-

H: Hiperplàsia

D: Displàsia

TAULA 10 - LESIONS PRENEOPLASIQÜES EN RELACIÓ AMB ELS TUMORS INDÜITS

TUMOR (1)	UNT (2)	H (3)	D (3)	CIS (3)
P	9	9	-	-
CPT GI	11	10	-	-
CPT GII	12	7	4	1
CPT GIII	2	1	-	1
CNP	1	1	-	-
CE	1	1	-	-
INVASOR	13	7	4	2
NO INVASOR	23	22	-	-

(1) Quan hi ha tumors de diversos graus, es considera només el grau més alt

(2) Animals amb uroteli no tumoral valorable.

(3) En els casos en que es troben diferents lesions es considera només la lesió de grau més alt.

Abreviacions: UNT: Uroteli no tumoral, H: Hiperplàsia, D: Displàsia,
P: Papil.loma, CPT: Carcinoma papil.lar transicional, CE: Carcinoma
escamós, CNP: Carcinoma transicional no papil.lar.

displàsiques (amb hiperplàsia o sense) i els carcinomes "in situ" es van relacionar només amb carcinomes invasors de graus II o III. En tots els casos menys un tant la lesió atípica com el tumor d'alt grau eren en la mateixa localització, encara que no sempre en continuïtat. En l'altre cas, la lesió displàsica era a pelvis renal, i el carcinoma invasor de grau II era a bufeta urinària; en la pelvis renal contralateral i en l'urèter d'aquest animal s'hi van desenvolupar papil·lomes. Tres animals van presentar hiperplàsia atípica (Fig 21), un altre displàsia sense hiperplàsia, i dos més mostraven alteracions prou intenses per a denominar-les carcinoma "in situ"; un d'aquests s'associava a àrees de microinvasió (Fig 22). En tots els casos hi havia també àrees d'hiperplàsia sense atípia.

IV. 1.d) ESTUDI IMMUNOHISTOQUIMIC (Taula 11)

- Antigen polipeptídic tissular (TPA):

No es va aconseguir cap reacció positiva amb el TPA en els 10 tumors estudiats ni en l'uroteli no tumoral. L'anticòs tampoc marcava l'epiteli tubular renal. Probablement els polipèptids detectats per aquest anticòs, si es troben presents en l'epiteli de la rata, no s'hi expressen amb prou intensitat

perque puguin posar-se de manifest amb la tècnica utilitzada en aquest estudi.

- Antigen de membrana epitelial (EMA):

L'EMA vam mostrar mínima positivitat en la membrana superficial de l'uroteli i dels tumors en alguns casos. La reacció era de distribució irregular, massa escassa i sense evidència suficient d'especificitat. Per aquesta raó, no es va considerar valorable.

- Lectina Ulex Europaeus (UEA):

La lectina UEA-I va resultar positiva amb diferents graus en gairebé tots els tumors, tant els superficials com els invasors, i en aquests, tant en la part exofítica com en l'invasora. La positivitat era citoplàsmica i de membrana, en general intensa, i es localitzava en cèl.lules aïllades o en grups, distribuïdes irregularment en el tumor, i tant en cèl.lules superficials com en cèl.lules basals (Fig 23 i 24). L'uroteli normal i hiperplàsic reaccionaven d'una manera irregular i inconstant, amb poca intensitat, i generalment la tinció es limitava a les cèl.lules superficials. No es va observar reacció positiva en l'endoteli vascular ni en els eritròcits. L'uroteli dels cas control va resultar negatiu.

- Antigen carcinoembrionari (CEA):

Igual que amb el TPA, no es van observar indicis de positivitat amb el CEA en cap dels tumors estudiats ni en l'uroteli no tumoral.

TAULA 11 - ESTUDI EXPERIMENTAL
RESULTATS DE L'ESTUDI IMMUNOHISTOQUIMIC

CAS	LOCALITZACIO			TPA	EMA	UEA	CEA
1	BU	UNT	Nr	-	-	-	-
2	BU	Tumor	P	-	<u>+</u>	++ E	-
		UNT	Nr	-	<u>+</u>	-	-
			H	-	<u>+</u>	-	-
3	BU	Tumor	CPT I	-	<u>+</u>	+ E	-
		UNT	Nr	-	-	-	-
			H	-	-	+ E	-
4	PR	Tumor	CPT I	-	<u>+</u>	++ E	-
		UNT	Nr	-	-	-	-
5	PR	Tumor	CPT I	-	-	<u>+ D</u>	-
		UNT	Nr	-	-	-	-
6	PR U	Tumor	CPT II	-	<u>+</u>	+++ E	-
		Tumor	CPT II	-	<u>+</u>	+ A	-
		UNT	H	-	-	+ A	-
7	PR	Tumor	CPT II	-	-	++ E	-
		UNT	Nr	-	-	-	-
8	PR	Tumor	CPT II	-	<u>+</u>	+ E	-
			Inv	-	-	++ C	-
		UNT	H	-	<u>+</u>	-	-
9	BU		Nr	-	-	-	-
		Tumor	CPT II	-	<u>+</u>	+ C	-
			Inv	-	-	++ E	-
10	PR	Tumor	CPT III	-	-	+ E	-
			Inv	-	-	+ E	-

BU Bufeta urinària; U Urèter; PR Pelvis renal; P Papil.loma;
 CPT Carcinoma papil.lar transicional; Inv Part invasora del tumor;
 UNT Uroteli no tumoral; Nr Normal; H Hiperplàsia;
 A: Positivitat limitada a cèl.lules superficials o preferentment superficial.
 C: Positivitat difusa només en algunes zones.
 D: Positivitat difusa generalitzada; E: Positivitat de distribució irregular.

Fig. 5: Uroteli normal de la pelvis renal d'una rata del grup control. El gruix màxim és d'unes quatre capes de cèl.lules, amb una capa superficial ben diferenciada. (H-E 360x).

Fig. 6: Uroteli normal de la bufeta urinària d'una rata del grup control. La capa de cèl.lules superficials recobreix una a dues capes de cèl.lules cúbiques (H-E 300x).

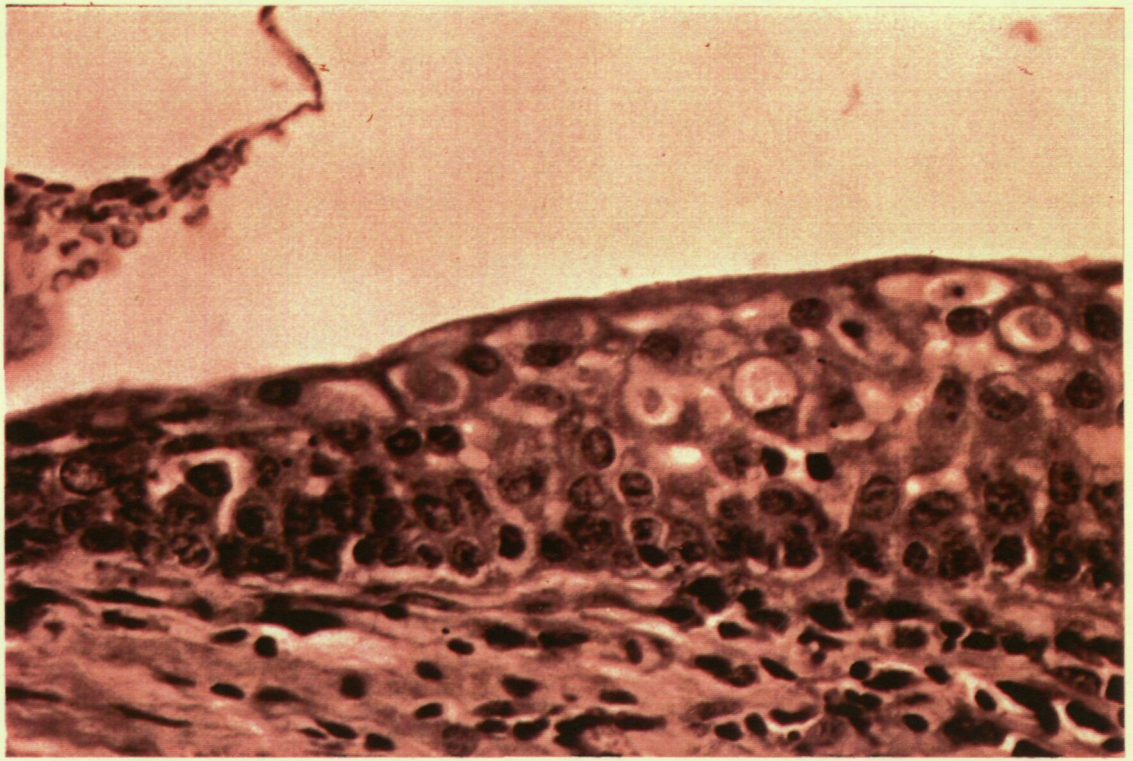


FIG. 5

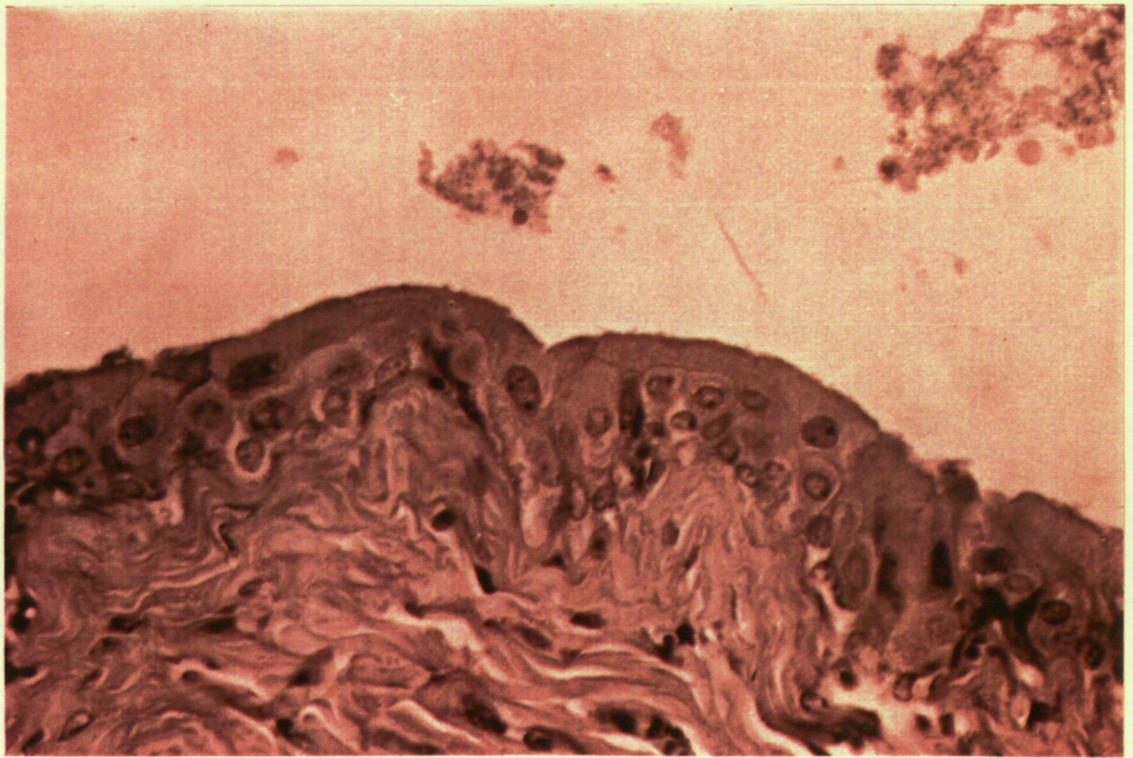


FIG. 6

Fig. 7: Bufeta urinària, rata, grup control. En estat de contracció, el teixit subepitelial forma plecs molt pronunciats (H-E 50x).

Fig. 8: Bufeta urinària, rata (DOPN, 1/5 LD₅₀). Tumor incipient, d'estructura predominantment nodular (H-E 80x).

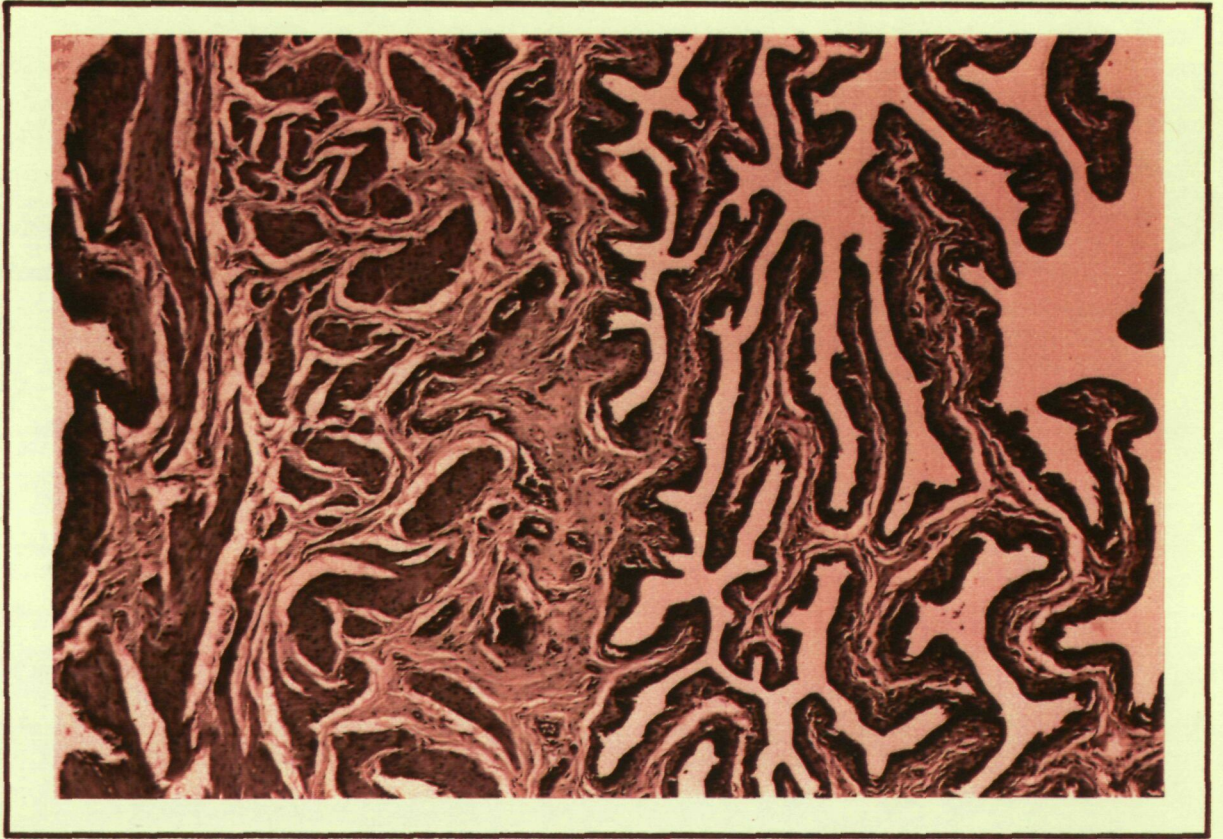


FIG. 7

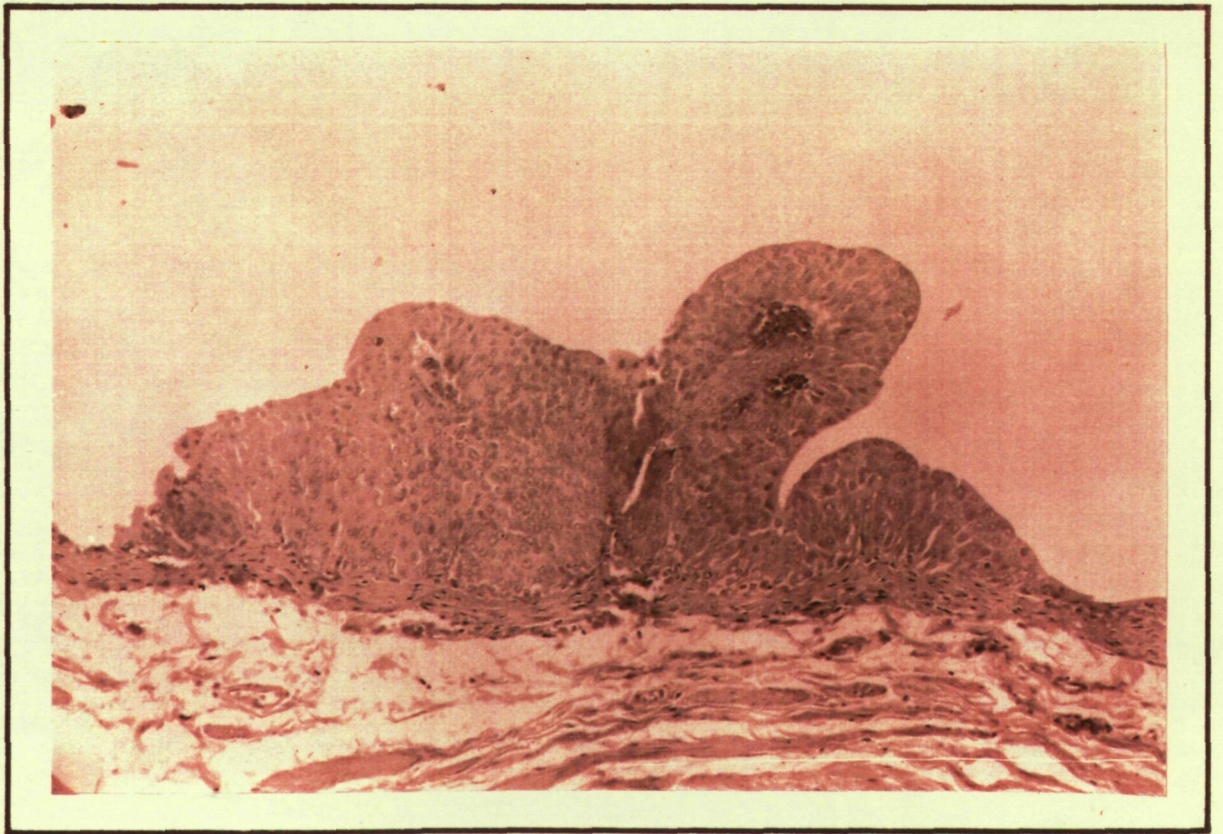


FIG. 8

Fig. 9: Pelvis renal, rata (DOPN, 1/10 LD₅₀). Gran neoplàsia papil·lar, d'àmplia base d'implantació, ocupant i distendint la llum de la pelvis renal (H-E 20x).

Fig. 10: Bufeta urinària, rata (DOPN, 1/10 LD₅₀). Neoplàsia papil·lar molt ben diferenciada que ocupa la totalitat de la llum vesical (H-E 25x).

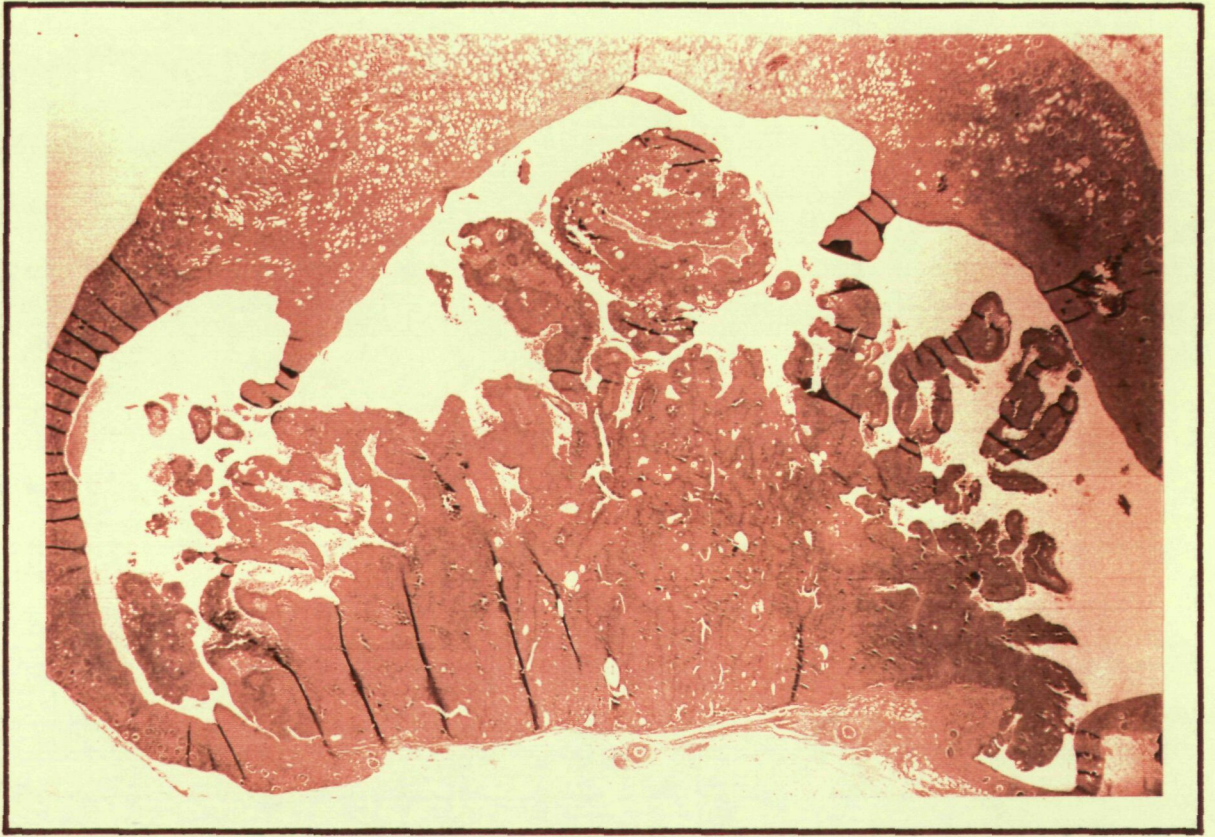


FIG. 9



FIG. 10

Fig. 11: Pelvis renal, rata (DOPN, 1/5 LD₅₀). Tumor papil·lar localitzat a l'infundíbul pièlic, produïnt hidronefrosi (H-E 10x).

Fig. 12: Papil·loma de cèl·lules transicionals, bufeta urinària, rata (DOPN, 1/5 LD₅₀). Eixos conjuntius revestits per epiteli de tres a cinc capes de cèl·lules, sense atípies (H-E 280x).



FIG. 11

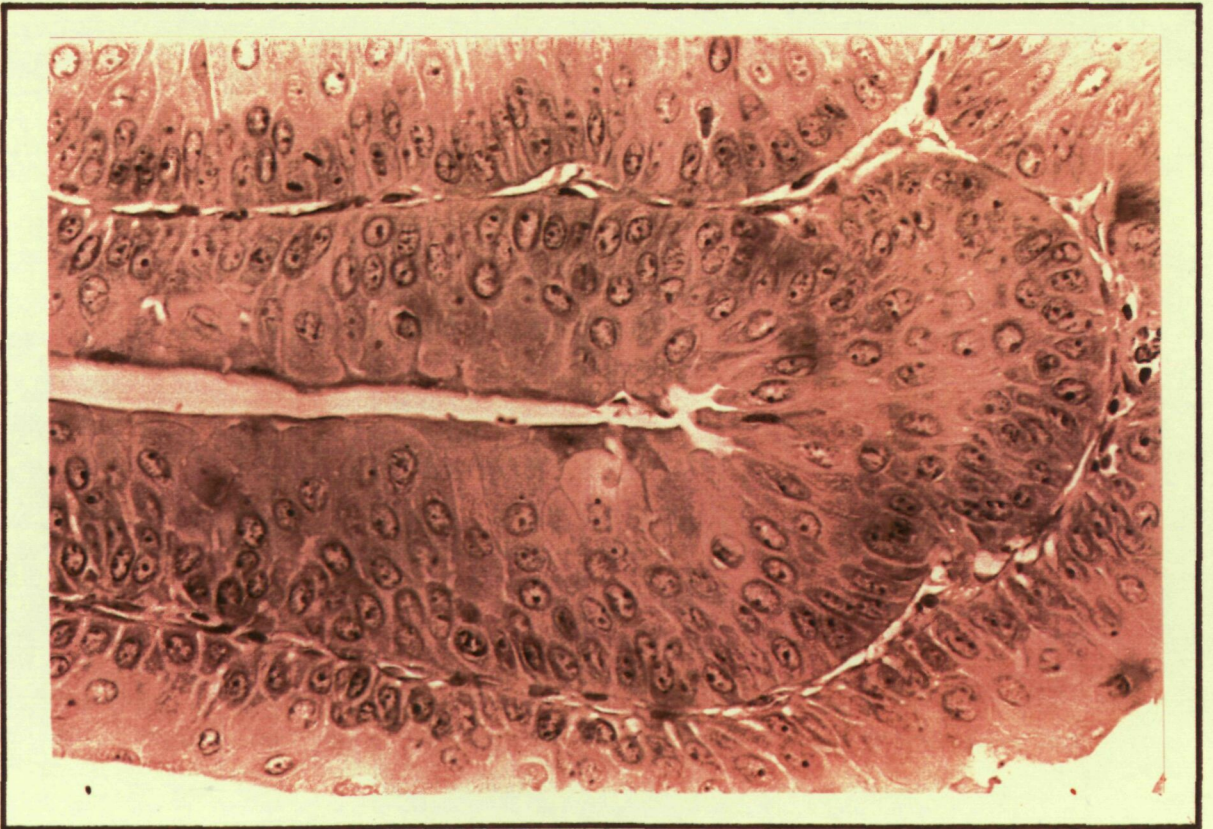


FIG. 12