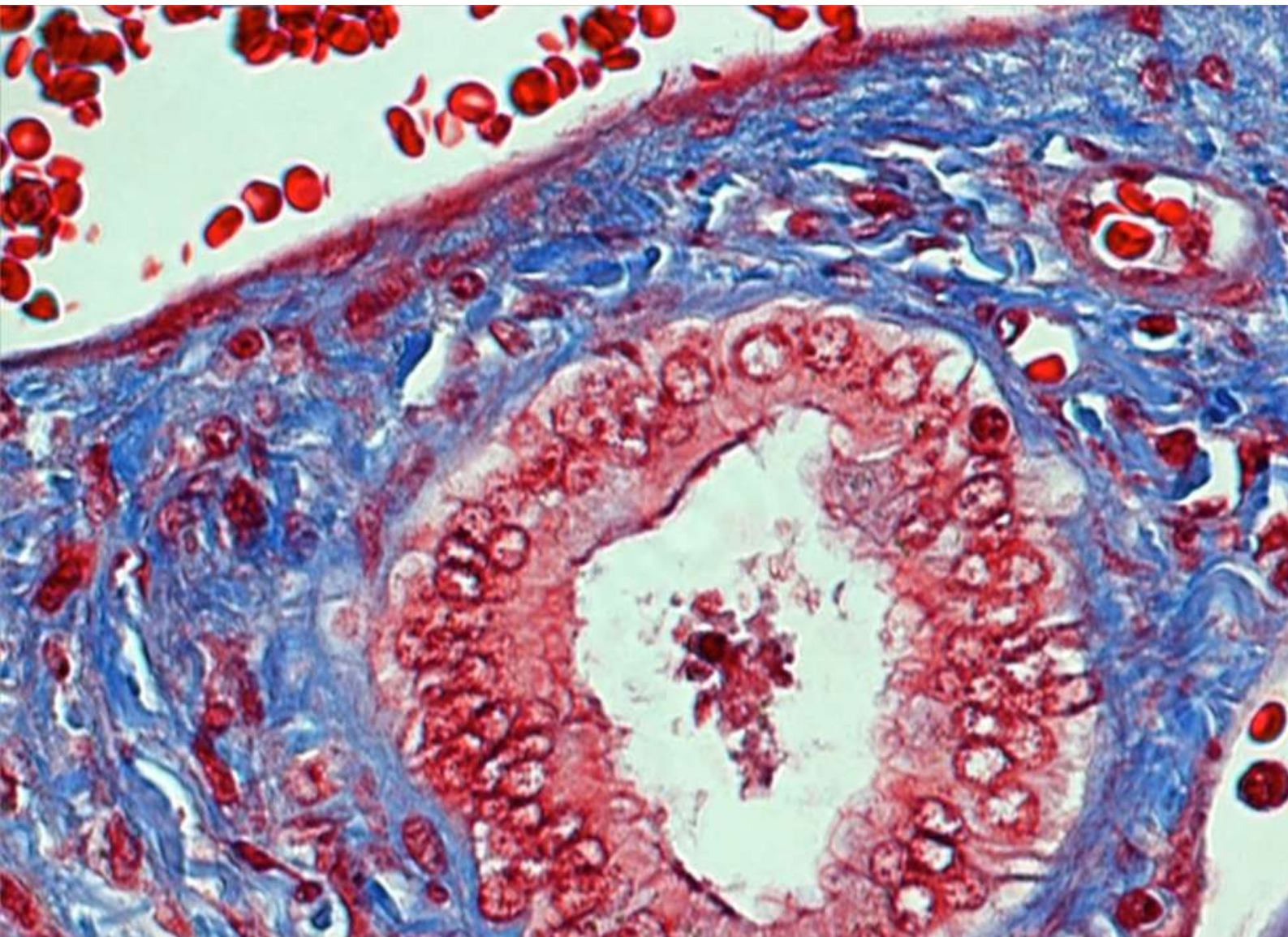


ANÀLISI D'IMATGES DE TEIXITS AMB HEPATOCARCINOMA



Autora: GOLDIE
Departament: BIOLOGIA
Curs: 2017/18

Em plau agrair aquelles persones que m'han fet suport en tot moment en l'elaboració d'aquest treball. Una recerca costosa però que m'enorgulleix haver acabat. Per això vull donar les gràcies a una sèrie de persones:

- A la meva tutora del treball, que ha representat un gran suport i una gran ajuda. No només m'ha assessorat sinó que també m'ha orientat en tot moment. Fins i tot, quan veia que necessitava una empenta per a seguir en bon peu també estava allà. Des del moment que em van assignar la meva tutora vaig saber que havia tingut molta sort.

I, sobretot, donar-li les gràcies per confiar en mi.

- A l'Esther Bertran, la persona sense la qual no hagués estat possible la recerca d'aquest treball. Estic més que agraïda d'haver pogut gaudir de l'oportunitat d'estar en un laboratori com el que ella em va proporcionar per poder observar i fer la meva recerca. Donar-li les gràcies també per haver-me ajudat d'una manera desinteressada. Quan li vaig comentar el treball que volia realitzar va mostrar de seguida una gran satisfacció de poder compartir amb mi la seva feina i la seva recerca. Gràcies a ella he obtingut molts coneixements que m'han ajudat en l'elaboració d'aquest treball. També em va donar molt suport en la meva estada a Barcelona.
- A tot el personal del departament TGF-beta and Cancer Group del laboratori d'Oncologia Molecular de l'Idibell; començant per la Dra. Isabel Fabregat, cap del departament, que va acceptar la proposta de les meves pràctiques allà, perquè sense el seu consentiment no hagués estat possible. Evidentment l'Esther, a la qual he fet una menció molt especial anteriorment. A en Dani, la Irene, la Judith, la Macarena i la resta de l'equip els quals em van acollir amb molt d'afecte des del principi i em van fer sentir una més del grup.
- I finalment agrair a la meva família per recolzar-me en tot sempre, per la seva paciència en moments en què he pogut estar més irritable, per ajudar-me a trobar la meva inspiració.

- I no em vull oblidar de la meua amiga Joana Cardoner que es va oferir de seguida per fer d'enllaç entre la seva mare Esther i jo.

ÍNDIX

1 – Introducció.....	6
2 – Histologia.....	10
3 – Coneixement teòric del fetge.....	11
3.1 – Anatomia.....	12
3.1.1 – La vesícula biliar.....	16
3.2 – Ubicació.....	17
3.3 – Fisiologia.....	19
3.4 – Regeneració.....	20
3.5 – Malalties del fetge.....	21
3.5.1 – Hepatitis.....	21
3.5.2 – Fibrosi.....	23
3.5.3 – Hepatocarcinoma.....	27
3.5.3.1 – Factors de risc.....	27
3.5.3.2 – Característiques citològiques del carcinoma hepatocel·lular...	29
3.6 – Tractament per a l'hepatocarcinoma.....	30
3.6.1 – Trasplantament hepàtic	32
3.6.2 – Sorafenib.....	34
3.7 – Supervivència a l'hepatocarcinoma.....	35
4 – Incidència d'alcoholisme actual en adolescents.....	36
5 – Metodologia.....	39
5.1 – Tècniques de tinció.....	39
5.1.1 – Hematoxilina-Eosina.....	39
5.1.2 – Tricròmic de Masson.....	40
5.1.3 – Immunohistoquímica.....	40
5.2 – Anàlisi d'imatges de teixits hepàtics.....	43
5.2.1 – Relació nucli-citoplasmàtica augmentada.....	43
5.2.2 – Proliferació augmentada.....	46
5.2.3 – Hiperce·llularitat.....	48
5.2.4 – Nuclis nus atípics.....	50
5.2.5 – Cèl·lules inflamatòries.....	52
5.2.6 – Necrosi.....	54
5.3 – Model animal d'investigació.....	56

6 – Conclusions.....	59
7 – Bibliografia.....	63
8 – Webgrafia.....	64
8.1 – Text.....	64
8.2 – Banc de fotos.....	65
9 – Annexos.....	I
9.1 – Immunohistoquímica en parafina.....	I
9.2 – Hematoxilina-Eosina.....	V
9.3 – Tricròmic de Masson.....	VII

1 – INTRODUCCIÓ

Durant la secundària vaig travessar un període ple de qüestions sobre el meu futur: Què estudiaria? Què m'agradava realment?... Finalment, a quart d'ESO em vaig adonar que el que més m'apassionava era la biologia; un món ple de qüestions científiques a les quals es pot trobar resposta a partir de l'estudi i la investigació.

Primer no sabia cap a quina branca encaminar-me perquè aquesta ciència es divideix en molts camps diferents i tots tenen el seu punt d'interès. Però a base d'anar estudiant els diversos temes em vaig adonar que m'encantava la recerca, i sobretot la de cures de malalties. Per això vaig veure l'oportunitat de realitzar aquest treball de recerca com a una primera presa de contacte en la investigació. I estic molt satisfeta amb el tema que he escollit perquè no és una malaltia que la societat n'estigui molt conscient i espero que aquest treball ajudi a fer conèixer més sobre el tema.

El meu treball de recerca es basarà en el desenvolupament del càncer de fetge i l'anàlisi d'imatges de teixits histològics que tenen aquest tumor.

Per altra banda crec que quan la gent sent a parlar de malalties s'espanta molt pensant que tan de bo no en pateixi cap. Evidentment, jo també ho faig però m'ho miro des d'una altra perspectiva. Ho veig com una oportunitat d'aprendre sobre un fet que afecta a les nostres vides i, que potser a la llarga, em pot permetre col·laborar a trobar possibles solucions, per a poder salvar vides. M'agradaria contribuir en un futur, posant els coneixements que pugui adquirir, per ajudar en la investigació de determinades malalties per tal d'arribar a la seva cura. Per tant, la realització d'aquest treball em dóna la possibilitat de fer un primer pas en el camí cap a on m'agradaria dirigir el meu futur professional.

He escollit aquest òrgan i no un altre perquè parlant un dia sobre el meu treball amb la meva amiga Joana, em va comentar que justament la seva mare treballava fent recerca sobre el fetge al laboratori d'Oncologia Molecular, TGF-

beta and Cancer Group. Vaig adonar-me que era una oportunitat única que no podia deixar escapar.

Així que vaig comentar la idea que tenia sobre el meu treball de recerca a l'Esther, la mare de la meva amiga, i va estar encantada que estigués interessada en fer un estudi sobre la investigació a la qual es dedica. Va dir que faria tot el possible per a posar els mitjans necessaris perquè pogués realitzar un bon treball. Entre altres coses, poder assistir com a alumne en pràctiques al laboratori de l'IDIBELL (Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge). L'IDIBELL és un centre d'investigació biomèdica localitzat a l'Hospitalet de Llobregat que està orientat a la millora dels problemes de salut de les persones.

L'objectiu al qual vull arribar realitzant aquest treball és distingir o determinar diferents imatges histològiques de pacients en diferents estadis de la malaltia de l'hepatocarcinoma, o càncer de fetge, comparant amb teixits normals.

Dels dos tipus de teixits, diferenciaré les característiques i les funcions de cada un, i també les fases de la malaltia. Per observar les mostres de teixit de fetge afectat pel càncer, deixades des del laboratori de Bellvitge, necessitaré conèixer bé i desenvolupar les tècniques de tinció usades, com: l'hematoxilina - eosina, la tricròmica de Masson i la immunohistoquímica.

També explicaré què és la histologia (ciència que estudia els teixits) i tot el relacionat amb aquesta.

El tema és molt ampli i per acotar-lo m'he plantejat les següents qüestions:

- Té cura aquest tipus de càncer?
- Quin és el percentatge de supervivència de la malaltia?
- Té un origen en concret o simplement un ADN mutat?
- De quines fases consta el càncer de fetge?

- Amb la incidència d'alcohol consumit actualment per el adolescents, pot augmentar la malaltia en la població al llarg dels anys ?
- **METODOLOGIA (ORGANTIZACIÓ DEL TREBALL):**

Per resoldre aquestes qüestions he estructurat el treball en dues parts.

La primera part serà la més teòrica, en la que descriuré el fetge i les seves funcions. També explicaré diferents tècniques de tinció utilitzades en el laboratori per a distingir diferents característiques dels teixits: l'hematoxilina-eosina, la tricròmica de Masson i la immunohistoquímica.

La segona part serà la pràctica, que consistirà en comparar fetges humans sans amb d'altres afectats de càncer, les característiques i les etapes de cadascun. També explicaré perquè es fan servir ratolins per a l'estudi del càncer de fetge.

Gràcies a un grup d'investigadors, liderat per la Dra. Isabel Fabregat, del Laboratori d'Oncologia Molecular de l'Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge (IDIBELL), vaig poder obtenir mostres de fetges de pacients afectats i no afectats d'hepatocarcinoma de l'hospital de Bellvitge. La línia d'investigació del Laboratori d'Oncologia Molecular es basa en l'anàlisi de diferents aspectes fonamentals relacionats amb el desenvolupament de l'hepatocarcinoma. Estudiem els mecanismes moleculars que intervenen en processos d'invasió, d'angiogènesis i de metàstasis.

Dins aquesta segona part incorporaré fotografies fetes amb els microscopis òptics del laboratori de l'IDIBELL, algunes de les quals fetes per mi. Vaig tenir la gran oportunitat d'estar quatre dies en el laboratori de recerca mencionat anteriorment. Allà vaig poder veure de primera mà tots els conceptes aplicats i poder distingir per mi mateixa diferents mostres de pacients.

Les fonts d'informació que he utilitzat per la primera part són webgrafia, bibliografia i informació directa d'explicacions que em van fer al laboratori.

Per la segona he utilitzat imatges cedides pel laboratori i d'altres fetes per mi. També informació extreta del laboratori i un programa per a determinar i calcular característiques que analitzaré, anomenat ImageJ.

Part de la informació que obtingui dels resultats la tractaré en forma de taula.

Afegiré un apartat d'annexes on s'hi podrà trobar informació complementària, com per exemple el protocol a seguir per algunes tincions usades en els teixits que analitzaré.

Amb aquest treball m'agradaria ajudar a la societat d'avui en dia a tenir més coneixement sobre el tema, i sobre les conseqüències que comporta una malaltia tan greu com el càncer de fetge.

2 – HISTOLOGIA

La histologia és la ciència que estudia l'anatomia microscòpica de les cèl·lules i dels teixits de plantes i animals; és a dir: l'estructura dels teixits, l'interior de les cèl·lules i els orgànuls; tot relacionant-ho amb la bioquímica i la citologia. Per a portar a terme aquests estudis s'examina una fina secció de teixit sota un microscopi òptic o un microscopi electrònic. La capacitat de visualitzar o d'identificar de manera diferencial les estructures microscòpiques sovint es potencia utilitzant tincions histològiques. La histologia és una eina essencial de la biologia i la medicina; estudia la morfologia del cos, per a la resolució de malalties i mals causants de milers de morts cada dia. Parteix de la base que les cèl·lules tendeixen a agrupar-se per formar aquests teixits.

La histologia és una ciència aplicada que va veure la llum a partir de la invenció del microscopi, aquesta eina va permetre determinar característiques dels teixits a nivell atòmic.

Aquesta ciència és essencial per a realitzar aquest treball perquè la part pràctica d'aquest es basa en l'anàlisi de teixits.

3 – CONEIXEMENT TEÒRIC DEL FETGE

El fetge és un òrgan voluminós de l'aparell digestiu i del sistema metabòlic dels vertebrats. Pesa aproximadament 1,5 kg en una persona adulta. Els invertebrats no tenen aquest òrgan sinó d'altres amb funcions hepàtiques. Està situat a la dreta de l'abdomen i sovint és qualificat com a una gran “fàbrica química”.

El fetge és la glàndula, òrgan, o víscera més gran del cos. Està situat sota el diafragma i protegit per les costelles. Recobert per una càpsula de teixit connectiu fibrós que penetra en l'òrgan per a formar envans que ho divideixen en lòbuls i lobels. La formació del fetge és a partir d'una invaginació del tub digestiu que es produeix durant el desenvolupament embrionari; per tant té un origen epitelial. Els hepatòcits són les cèl·lules que formen la major part del fetge i són les principals responsables de la seva funció. Una gran part de la sang que arriba al fetge prové de la vena porta que recull els productes de la digestió que han estat absorbits. Aquesta forta irrigació sanguínia és la que fa que tingui un color vermellós.



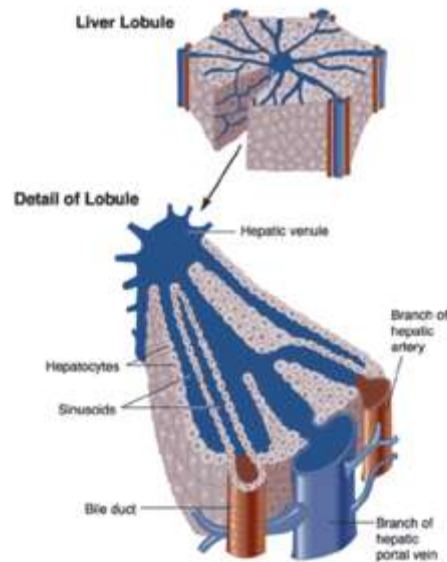
Part dels òrgans de l'aparell digestiu on el fetge està marcat en taronja

3.1 – ANATOMIA:

En el fetge diferenciem dues cares, la diafragmàtica on trobem dos lòbuls i la cara visceral on trobem quatre lòbuls.

En la primera cara, la divisió dels dos lòbuls es produeix a través del lligament suspensori del fetge o falciforme que el fixa al diafragma. Però també existeixen altres lligaments importants: el lligament coronari del fetge (va al cor), els lligaments triangulars (un a cada costat) i el lligament rodó del fetge (va al melic, ja que durant el procés embrionari és l'artèria que porta la sang al cor mitjançant el cordó umbilical). La vesícula biliar està situada a l'alçada del lòbul dret i actua com a dipòsit per a la bilis. El fetge rep sang per dues vies diferents: l'artèria hepàtica, que aporta la sang que arriba del cor, i la vena porta, que transporta la sang enviada de l'intestí. A continuació, les venes hepàtiques s'encarreguen de garantir l'evacuació de la sang.

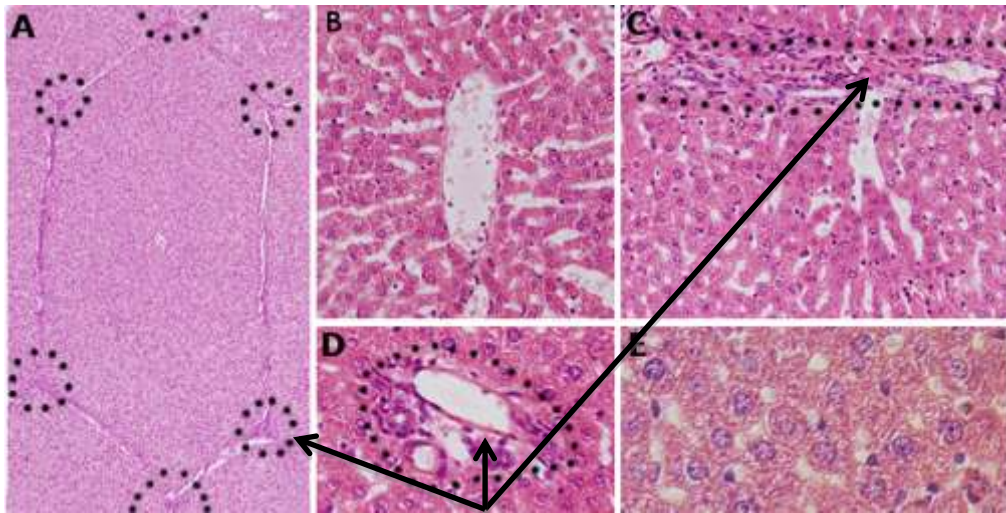
L'organització cel·lular del fetge és relativament senzilla ja que és la repetició d'una estructura bàsica denominada lobel hepàtic. Els lobels solen estar separats entre si per teixit connectiu, encara que no en totes les espècies és clarament visible. Tenen forma de prisma poligonal que mesura d'1 a 2 mm de diàmetre. En seccions transversals té una forma aproximada d'hexàgon amb una vena central o centrolobulillar de gran diàmetre. En els vèrtexs de l'hexàgon, entre lobels contigus, es troben els espais portals formats per teixit connectiu i per les denominades tríades portals, compostes per una branca de la vena porta, una branca de l'artèria hepàtica i un conducte biliar. La vena porta hepàtica porta el 70-75 % del flux sanguini (15 ml/min) i conté sang poc oxigenada i rica en nutrients provinent del sistema digestiu i de la melsa, mentre que l'artèria hepàtica conté sang oxigenada.



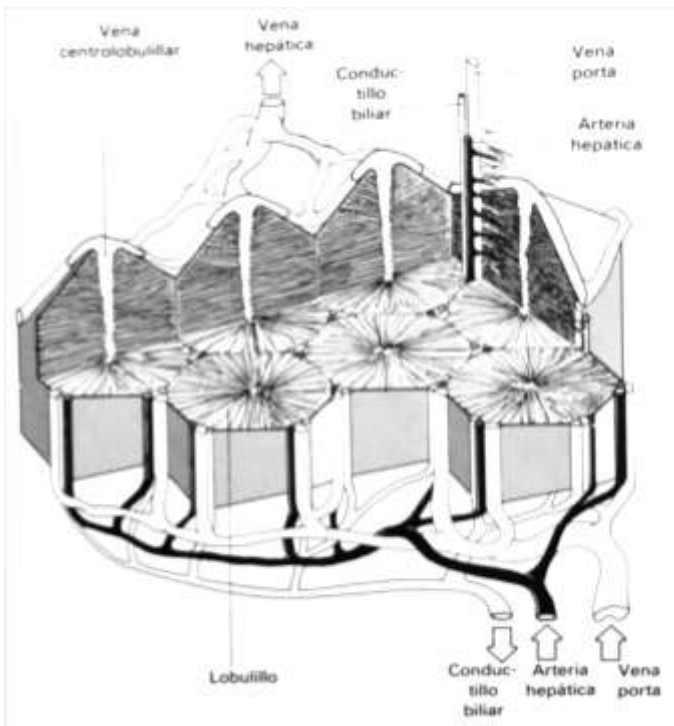
Estructura del lòbul hepàtic

La sang arriba als gots sanguinis dels vèrtexs, els quals porten les substàncies des del sistema digestiu, mentre que l'artèria central drena el resultat de l'activitat dels hepatòcits. Els gots portals i la vena central es comuniquen gràcies a capil·lars que discorren entre els hepatòcits denominats capil·lars sinusoïdals, la paret dels quals està composta per una capa discontinua de cèl·lules endotelials fenestrades que manquen de membrana basal. Aquests capil·lars discorren de forma radial, recullen el fluid de les venes portes i artèries dels vèrtexs, a més de la secreció endocrina dels hepatòcits, i conflueixen al centre del lòbul per alliberar el seu contingut en la vena centrolobulillar. La confluència de les venes centrolobulillars dóna lloc a les venes hepàtiques que finalment drenen en la vena cava inferior.

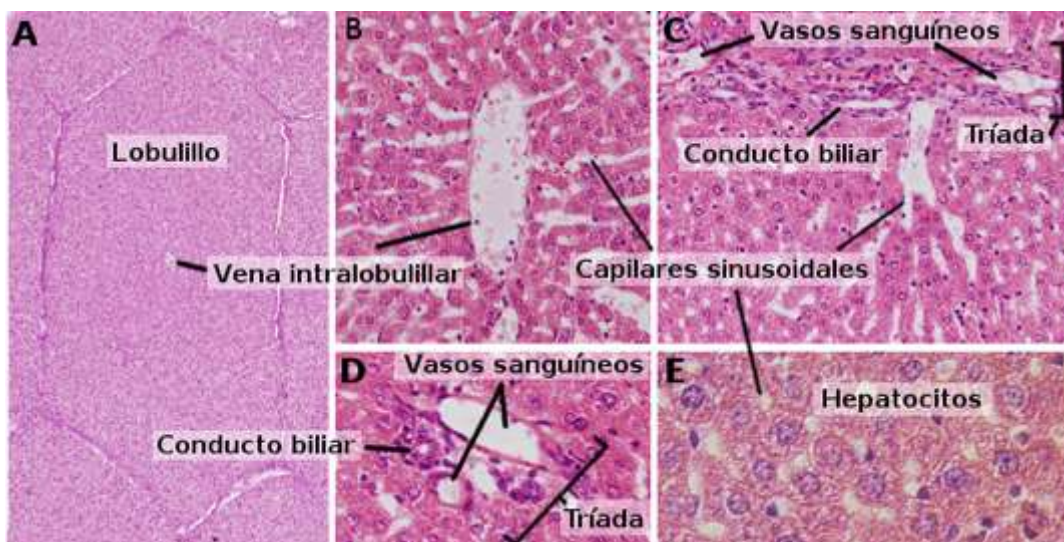
Els conductes biliars, que formen part de la tríada, recolliran el contingut exocrí dels hepatòcits que es denomina bilis. Aquesta excreció anirà en sentit contrari al corrent que discorre pels capil·lars sinusoïdals, és a dir, es dirigeix des dels hepatòcits fins als conductes biliars de la perifèria del lòbul hepàtic. Això és possible perquè les membranes plasmàtiques d'hepatòcits continus creen uns espais interconnectats que formen els denominats canaliculs biliars, els quals s'organitzen en una xarxa anastomosada que acaba per fusionar-se amb els canals biliars.



Imatge del teixit del fetge on estan marcades les tríades



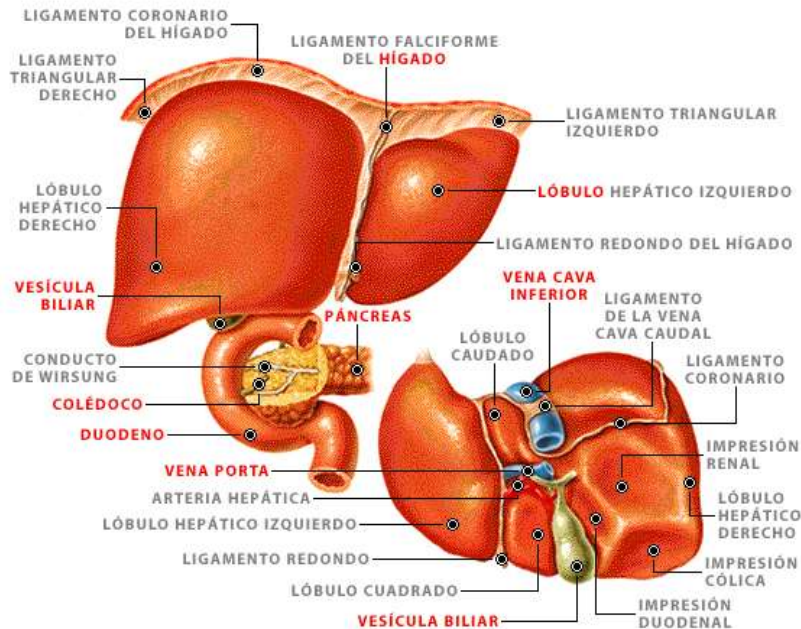
Imatge del teixit del fetge en 3D. Extreta d'El Atlas de Histología Funcional de P.R.Wheater, H.G.Burkitt i V.G.Daniels



Imatge del teixit del fetge on estan marcades totes les parts visibles

L'avantatge del fetge d'estar dividit en dos lòbuls és que quan en un d'ells hi ha algun procés o alguna malaltia és fàcil d'eliminar el lòbul i mantenir el funcionament del fetge. També amb els transplants, és més productiu ja que el donant pot desprendre's d'un lòbul i seguir amb un funcionament correcte.

En la cara visceral el que trobem són les impressions de les vísceres que té a sota. Per exemple en el lòbul esquerra trobem la impressió gàstrica i en el lòbul dret la impressió còlica (de l'angle hepàtic del colon), la renal (ronyó dret) i la suprarenal (glàndula suprarenal dreta).



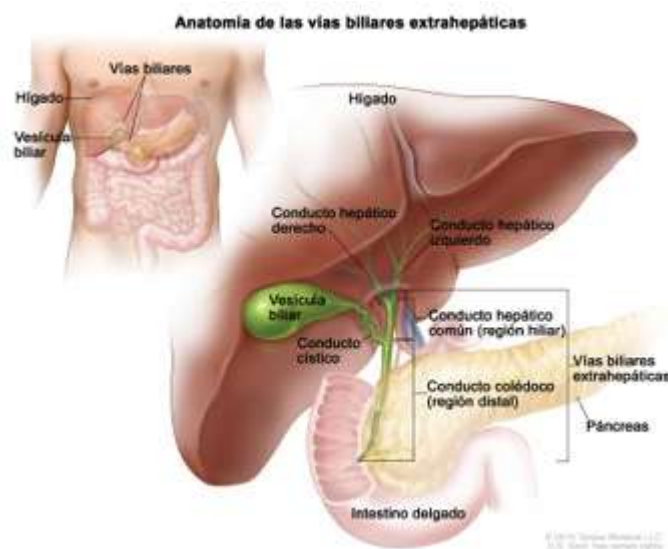
Fetge amb les seves parts

3.1.1 – LA VESÍCULA BILIAR:

La vesícula biliar és un òrgan buit que es troba en una concavitat del fetge entre els lòbuls dret i quadrat. En adults, la vesícula biliar mesura aproximadament 10 cm de longitud i 4 cm de diàmetre quan està totalment distesa. La vesícula biliar emmagatzema uns 50 ml de bilis, la qual s'allibera quan un aliment que conté greixos entra al tracte gastrointestinal, estimulant la secreció de colecistocinina. La bilis, produïda al fetge, emulsiona els greixos i neutralitza els àcids dels aliments parcialment digerits.

Els hepatòcits produeixen la bilis, que és recollida en els conductes que surten dels lòbuls hepàtics i convergeixen en un sol conducte denominat conducte hepàtic comú, al qual està connectat el magatzem temporal de la bilis que és la vesícula biliar. Des d'aquí es condueix fins al duodè. És una solució aquosa que conté productes de desfet que són enviats a l'intestí i eliminats, però la bilis també conté components útils que ajuden a la digestió com a sals biliars, proteïnes, colesterol i hormones. Les sals biliars ajuden en la digestió dels greixos.

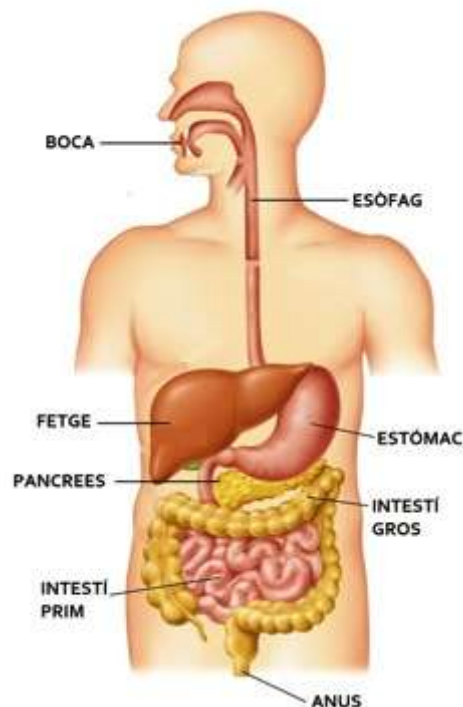
Després de ser emmagatzemada a la vesícula biliar, la bilis es torna una substància més concentrada incrementant la seva potencia.



Fetge i vesícula biliar, marcada en verd

3.2 – UBICACIÓ

El fetge forma part de l'aparell digestiu, un sistema d'òrgans que converteix els aliments en molècules bastant petites en un procés anomenat digestió. Un cop realitzada la digestió, l'organisme pot absorbir aquestes substàncies i fer-les servir en l'obtenció d'energia i en el manteniment del cos. L'aparell digestiu consta d'un tub que normalment té dues obertures, una per a l'entrada dels aliments i una altra per a la sortida dels residus no digerits. Durant el recorregut de l'aparell es troben una sèrie d'òrgans, entre ells el fetge:



Aparell digestiu

- La boca: conté les dents que mosseguen i masteguen el menjar, i la llengua que barreja els aliments amb saliva i els empeny cap a la gola.
- L'esòfag: serveix de conducte de pas per als aliments entre la gola i l'estómac. Un cop ha arribat a l'esòfag, el menjar passa automàticament a l'estómac.

- L'estómac: tritura i barreja els aliments amb substàncies àcides i digestives anomenades enzims.
- El pàncrees: produeix els enzims que faciliten la transformació dels aliments.
- El fetge: produeix i allibera substàncies digestives a l'intestí prim. També emmagatzema sucres i els allibera a la sang segons les necessitats de l'organisme.
- L'intestí prim: és un tub llarg i prim, de més de 5 m de longitud. En ell es produeix la major part del procés de la digestió i de l'absorció dels aliments. Els enzims alliberats degraden el menjar. L'intestí prim desemboca a l'intestí gros.
- L'intestí gros: és un tub ample d'1,5 m de longitud, situat a l'abdomen. A través de l'intestí gros s'absorbeix l'aigua i les substàncies químiques útils. El material sobrant és impulsat i excretat per l'anus.

3.3 – FISIOLOGIA:

El fetge realitza múltiples funcions en el cos entre les quals destaquen la producció de bilis per a la digestió, l'emmagatzematge de sucre en forma de glicogen i la desintoxicació de la sang. Un òrgan tan important es veu sotmès a moltes situacions perjudicials que generen problemes de diferent tipus. Els de major prevalença i / o gravetat són les hepatitis en les seves diferents classes i la cirrosi. Entre les tasques bàsiques del fetge tenim:

- Emmagatzemar vitamines, minerals, ferro i sucres que el nostre organisme necessita per funcionar.
- Processar els aliments i convertir-los en substàncies i energia que són essencials per a la nostra correcta nutrició i per a realitzar les nostres activitats diàries.
- Descompondre substàncies químiques que entren o es produeixen en el nostre organisme i són perjudicials.
- Produir proteïnes essencials que ens ajuden a combatre infeccions i a coagular la sang.
- Controlar els nivells d'hormones i substàncies químiques que circulen en el nostre torrent sanguini.

Les malalties del fetge poden donar peu a un gran nombre d'afeccions. Quan un mateix no fa cas d'aquestes o bé esdevenen cròniques, aleshores la situació pot complicar-se amb una fibrosi, una desorganització de l'arquitectura hepàtica, que col·loquialment anomenem "cirrosi". En la fase de cirrosi, poden succeir greus complicacions, en particular, el càncer. La principal afecció hepàtica pot ser a causa o com a resultat de l'exposició de l'organisme a certs tipus de verins com ara l'alcohol o a determinats medicaments. La susceptibilitat varia d'un pacient a un altre i depèn de predisposicions genètiques, metabòliques o de la combinació d'uns quants factors de risc.

3.4 – REGENERACIÓ

Les cèl·lules del fetge o hepatòcits tenen una característica diferent a d'altres cèl·lules de l'organisme com és la regeneració. Això suposa un desenvolupament sense cap ajut del teixit. La RH (regeneració hepàtica) reproduceix el model fisiològic de resposta al dany amb una fase primera de preparació o “encebat” dels hepatòcits (transició G0-G1 del cicle cel·lular) i una fase ulterior de proliferació (fases S/M del cicle) que acaba amb la recuperació de la massa hepàtica.

Aquest procés s'ha relacionat amb els mediadors de la resposta biològica al dany tissular: hormones, sistema del complement, plaquetes, citocines pro inflamatòries (TNF-a, IL-1b, IL-6), factors de creixement (HGF, EGF, VGF, etc.) i factors antiinflamatoris (IL-10, TGF-b).

La RH serà més ràpida o lenta, depenent de la persona, i això suposarà un avantatge o un inconvenient, respectivament, si al pacient se li extreu una part del fetge; ja sigui per analitzar, perquè el càncer no s'estengui o per usar-lo per a trasplantar.

Tot i així, degut a la seva complexitat i a la seva estricta regulació, s'explica que encara avui l'única alternativa a la insuficiència hepàtica és el trasplantament de fetge.

3.5 – MALALTIES DEL FETGE

Hi ha diferents malalties que pot patir el fetge, però tal com he dit abans en aquest treball mencionaré les tres més comunes i em centraré amb l'hepatocarcinoma, ja que les practiques que he realitzat estan relacionades amb aquesta malaltia.

3.5.1 – HEPATITIS:

L' hepatitis és una malaltia caracteritzada per la inflamació del fetge. Pot estar provocada per diverses causes com:

- Virus (hepatitis viral) i bacteris.
- Consum d'alcohol, drogues, fàrmacs o fongs verinosos.
- Disfunció del sistema immunològic que provoca un atac a les cèl·lules hepàtiques.

Hi ha diversos tipus d'hepatitis: l'hepatitis A, l'hepatitis D, l'hepatitis E, l'hepatitis B i l'hepatitis C. També s'han descrit les hepatitis F i G però encara estan poc estudiades perquè estan en procés d'investigació.

Es transmet per via sexual (hepatitis B i C), a través de la sang (hepatitis B, C, D, F i G) i per via orofecal per contacte amb la femta de persones infectades o el consum d'aliments o aigua infectats (hepatitis A i E). Per tant, podríem dir que entre les situacions de risc generals per a la transmissió o patiment d'hepatitis es troben: l'ús de drogues intravenoses, el comportament sexual de risc, la ingestió d'aliments contaminats i la sobredosi de fàrmacs hepatotòxics.

Els símptomes de l'hepatitis poden ser molt evidents o passar gairebé desapercebuts. Pot provocar icterícia (coloració groga de la pell i els ulls), orina fosca (colúria), femtes clares o argiloses (acòlia), anorèxia, cansament i falta de

força i gana (astènia), aprimament, nàusees, vòmits, augment i dolor abdominal o aparició de mames en els homes. Més o menys els símptomes en general són iguals en totes les hepatitis.

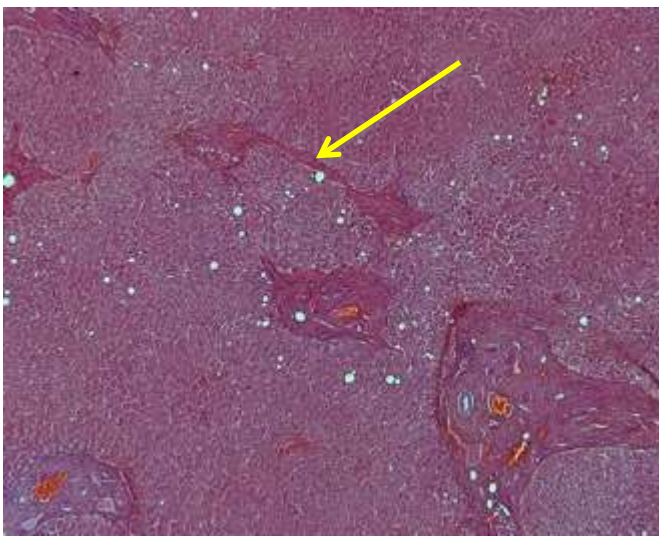
El diagnòstic es realitza amb un examen físic per part del metge, una ecografia abdominal i proves de laboratori que inclouen: analítica general, proves de funció hepàtica, serologia viral de l'hepatitis i marcadors autoimmunes. Pot ser necessari fer una biòpsia del fetge per conèixer el grau d'afectació.

L'hepatitis es pot curar abans de sis mesos (hepatitis aguda), o fer-se crònica causant dany hepàtic, a llarg termini pot derivar en cirrosi o càncer de fetge, arribant a comprometre molt seriosament la funcionalitat hepàtica. La seva evolució dependrà de diversos factors com el tipus d'hepatitis, l'existència d'altres malalties, etc. En ocasions, el dany pot ser molt ràpid i tan intens que posi en perill la vida en qüestió d'hores (hepatitis fulminant). Algunes hepatitis es poden prevenir mitjançant la seva vacunació (hepatitis A i B).

El tractament depèn de la causa generadora i de la intensitat. El repòs durant la fase aguda i una dieta pobra en greixos pot ser suficient en l'hepatitis A. Les formes fulminants i les cròniques que evolucionen cap al fracàs funcional hepàtic poden necessitar un trasplantament de fetge.

3.5.2 – FIBROSI

Les malalties cròniques del fetge, que cursen un procés inflamatori durant un temps, produeixen una acumulació progressiva de fibres de col·lagen al parènquima hepàtic anomenada fibrosi, l'estadi final del qual és la cirrosi hepàtica. Les causes d'aquestes malalties cròniques poden ser: infecció crònica per virus B, virus C, consum abusiu d'alcohol, trastorns del metabolisme com hemocromatosi, dèficit congènit d'alfa-1-antitripsina, autoimmunitat, drogues, etc...



Part del teixit hepàtic d'un pacient amb fibrosi I-II, 4x

En aquesta imatge d'una fibrosi I-II es veu clarament la unió de dues trípades degut a l'increment de les fibres de col·lagen. Aquest es fa per a substituir les cèl·lules mortes, degut a la ingerència de substàncies tòxiques, entre les dues trípades. La tinció usada en aquesta mostra és la hematoxilina-eosina (6.1.1).

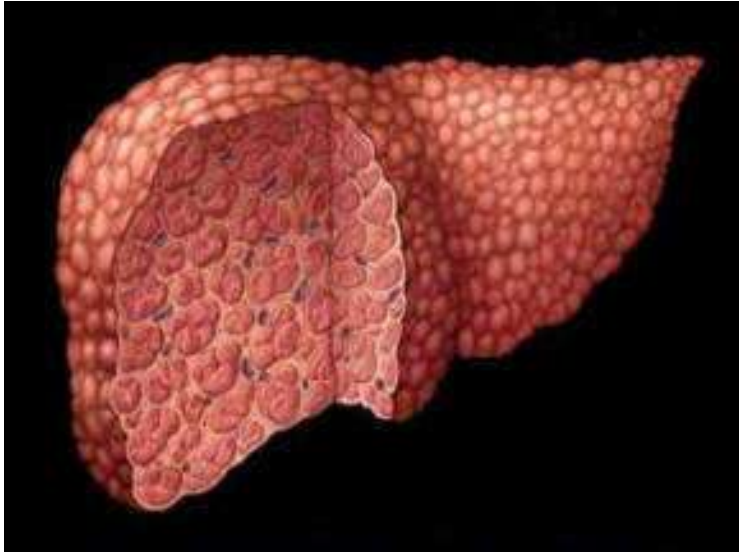
La fibrosi hepàtica és l'acumulació de cicatrius fibroses i dures en el fetge. Per arribar a la fibrosi hepàtica cal una successió d'esdeveniments que comencen amb el procés inflamatori de la cèl·lula hepàtica, per qualsevol de les causes esmentades. Aquest procés inflamatori fa que els hepatòcits (cèl·lules funcionals del fetge) pateixin danys o morin, aleshores s'activa el sistema immunològic fent que el procés de reparació entri en escena. La lesió o mort (necrosi) dels hepatòcits estimula l'alliberament de citocines, factors de creixement i altres substàncies químiques per part de les cèl·lules immunitàries.

Els factors de risc per al desenvolupament de la fibrosi hepàtica són els següents:

- La infecció crònica pels virus de l'hepatitis B o l'hepatitis C.
- El gènere (les fibrosi es produeix més ràpidament en els homes que en les dones).
- L'edat (els majors de 50 anys tenen més risc).
- El sistema immune compromès, a causa de la coinfecció amb el VIH o l'ús de fàrmacs immunosupressors després d'un trasplantament de fetge.
- El consum excessiu d'alcohol.
- El fetge gras (esteatosis).
- La resistència a la insulina, com a resultat de la qual es necessiten nivells més alts d'insulina perquè pugui tenir el seu efecte.

En les primeres etapes de la fibrosi hepàtica, algunes persones no experimenten símptomes ja que el fetge funciona relativament bé. En aquest cas la persona pot viure una vida normal, a vegades molt activa, durant dècades, i fins i tot sense saber que té una malaltia hepàtica.

Amb el temps, depenent de la dosi i la freqüència de substàncies tòxiques introduïdes al cos, la fibrosi pot alterar les funcions metabòliques del fetge i la fibrosi I–II pot passar a la III–IV o bé pot conduir a la cirrosi, una condició en la qual les cicatrius en el fetge passen a ser greus. Això pot restringir el flux de sang, i afectar a la capacitat de funcionament de l'òrgan. La fibrosi també podria estancar-se i no causar cap problema a la persona.

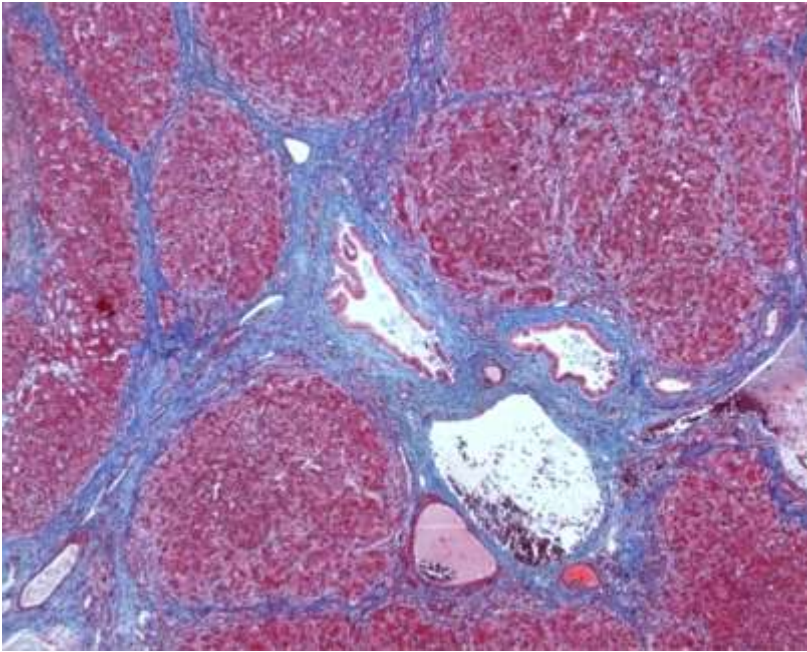


Imatge del l'estructura d'un fetge amb cirrosi, en aquest estat l'òrgan forma nòduls.

Un fetge sa és suau i esponjós; però un fetge en el qual s'ha desenvolupat fibrosi és més ferm, i si la condició progressa a cirrosi, el fetge pot arribar a estar dur.

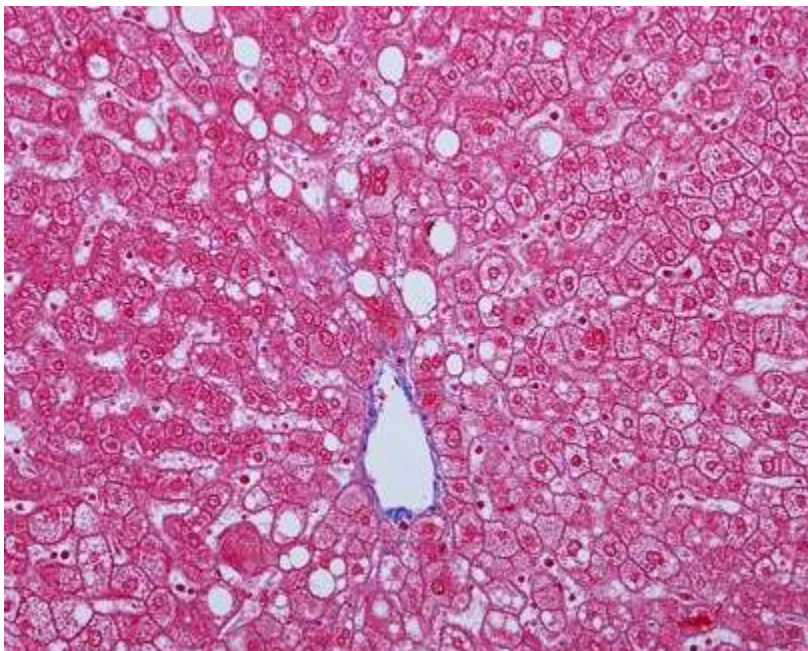
La cirrosi normalment ve derivada de dues fases anteriors a aquesta anomenades fibrosi I-II i fibrosi III-IV.

La cirrosi és la conseqüència d'un dany acumulat en el fetge, habitualment durant diversos anys, que es caracteritza per l'acumulació de fibrosi en el teixit hepàtic i disminució del teixit hepàtic. Aquests canvis del fetge interfereixen amb l'estructura i funcionament normal del fetge, ocasionant serioses complicacions en la circulació de la sang a través d'aquest òrgan i en les seves funcions



Part del teixit hepàtic d'un pacient amb cirrosi, 4x

En aquesta imatge d'un teixit amb cirrosi veiem com les fibres de col·lagen han augmentat respecte la imatge del teixit amb fibrosi. En la cirrosi les fibres connecten totes les tríades formant aquesta estructura que, amb la tinció del tricròmic (6.1.2), es pot veure molt detalladament.



Part del teixit hepàtic del control 2, 20x

A diferència de la imatge anterior en aquesta, que correspon a un control (mostra d'un fetge sà) només hi ha presència de fibres de col·lagen al voltant de la tríada.

3.5.3 – HEPATOCARCINOMA

El carcinoma hepatocel·lular (HCC) és el tumor maligne més freqüent originat al fetge, és la segona causa de mort per càncer en el món i té una incidència de 800.000 nous casos a l'any. L'HCC és una patologia greu i globalment rellevant. En diversos articles es parla de que és la sisena causa de càncer i la segona en mortalitat. Concretament el 2013, l'HCC va ser la primera causa de mortalitat per càncer a Egipte, Aràbia Saudita, Ghana, Nigèria i Bangladesh i va ser la segona causa de càncer a Xina, Índia i Filipines.

La cirrosi, independentment de l'etiologia, és el factor de risc més important pel desenvolupament d'HCC. L'hepatitis B i C són factors de risc independents pel desenvolupament de cirrosi i d'HCC. La primera es troba en el 80-90% dels pacients amb HCC. El risc als 5 anys, de què es desenvolupi HCC en una persona amb cirrosi al fetge, s'estima entre el 5% i el 30%, depenent de la causa (és més elevat en els portadors del VHC), de la regió geogràfica (sent major en les persones asiàtiques) i de l'estadi de la cirrosi.

3.5.3.1 – FACTORS DE RISC

- **Hepatitis C**

La prevalença mundial del VHC (Hepatitis C), s'estima que és del 2% de la població, i varia depenent de la zona geogràfica. En base a estudis filogenètics de la diversitat del VHC ens podem remuntar a l'origen de l'epidèmia i es pot teoritzar sobre la seva història. Es descriu que l'epidèmia es va iniciar al Japó, es va transmetre entre adults joves en els anys 20; al sud d'Europa es va produir als anys 40, i a Nord-amèrica en els 60-70. El virus C es va transmetre per agulles contaminades i material d'un sol ús i es va estendre als bancs de sang de l'època.

- **Diabetis mellitus i malaltia hepàtica per greix no alcohòlica (EHGNA)**

Es creu que el 60% dels pacients majors de 50 anys amb diabetis o obesitat tenen EHGNA amb fibrosi avançada. Aquestes malalties cròniques, diabetis mellitus i obesitat, augmenten el risc d'HCC. La diabetis és un factor de risc independent per HCC.

La diabetis mellitus afecta directament al fetge degut al paper essencial del fetge en el metabolisme de la glucosa. Pot conduir a hepatitis crònica, fetge gras, esteatohepatitis, cirrosi i/o insuficiència hepàtica. Els pacients amb diabetis tenen entre 1,8 i 4 vegades major risc d'HCC.

- **Altres circumstàncies de predisposició**

Ser home o dona pot representar un paper en el desenvolupament de l'HCC, donat que es presenta més sovint en homes, amb una proporció de 2:1, o fins i tot de 4:1. En general, això no només es relaciona amb ser homes; ells tenen també més probabilitats de tenir hepatitis viral, consumir majors quantitats d'alcohol, fumar i tenir un índex de massa corporal major que les dones. També podrien influir els nivells de testosterona, més elevats en els homes. Se sap que els nivells elevats de testosterona es relacionen amb HCC en portadors d'hepatitis B i en els homes amb hepatitis crònica per VHC i fibrosi hepàtica avançada. En aquesta línia, està ben establert que els esteroides hepàtics augmenten el risc de presentar major incidència d'HCC i d'adenomes hepàtics (tumors hepàtics en principi benignes).

Malgrat els avenços en les tècniques de prevenció, detecció i noves tecnologies, tant en el diagnòstic com en el tractament, la incidència i la mortalitat segueixen augmentant, per diverses causes. El consum d'alcohol segueix sent un important factor de risc, ja que la cirrosi per alcohol és més freqüent que la produïda per l'hepatitis C i a més potencia la progressió de la fibrosi en les persones portadores del VHC.

El diagnòstic d'HCC es realitza sense necessitat de confirmació per biòpsia. El cribratge inclou proves radiològiques amb ecografia, tomografia computaritzada (TAC) i ressonància magnètica (RM), i marcadors serològics com la α -fetoproteïna en intervals de 6 mesos.

3.5.3.2 – CARACTERÍSTIQUES CITOLÒGIQUES DEL CARCINOMA HEPATOCEL·LULAR

Per poder fer una anàlisi de les imatges de teixits amb HCC i poder identificar la presència d'aquesta malaltia és necessari saber les principals característiques que apareixeran al teixit. Les marcades en negreta són aquelles amb les que em basaré per analitzar les imatges en la part pràctica d'aquest treball.

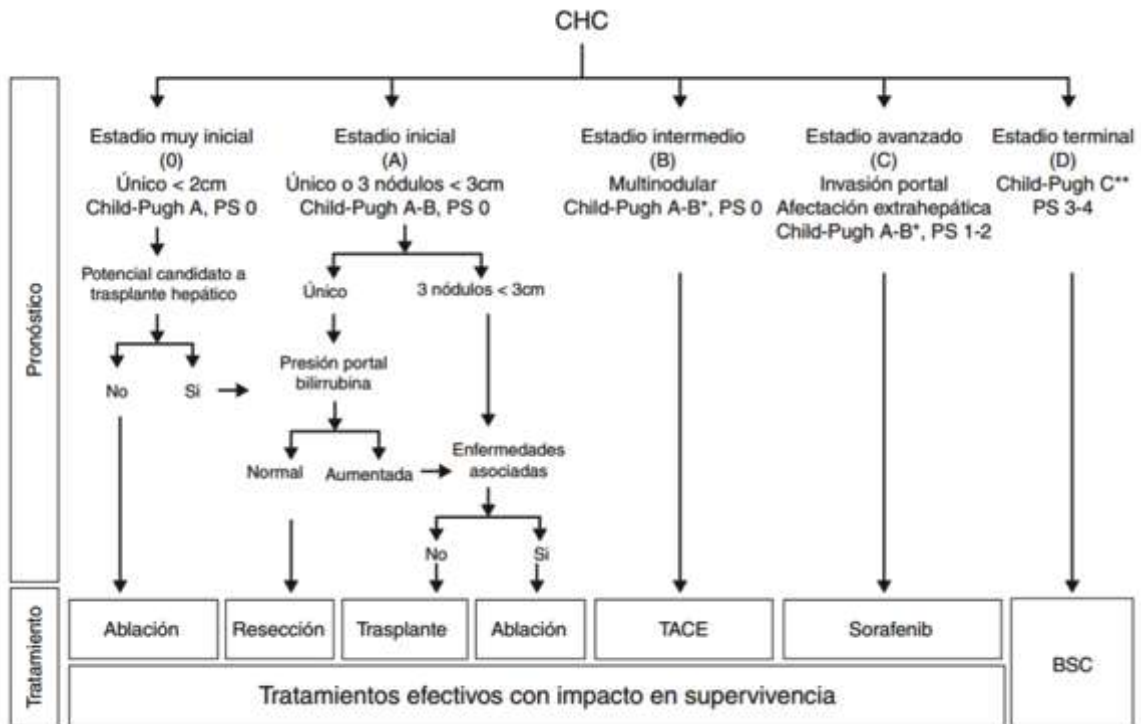
- Aspecte granular de l'extensió a ull nu
- **Hipercel·lularitat**
- Aparença hepatocitària
- Cohesivitat epitelial
- **Relació nucli-citoplàsmica augmentada**
- **Nuclis nus atípics**
- Cèl·lules gegants tumorals
- **Proliferació augmentada**
- Vacuoles citoplasmàtiques (greix, glucogen)
- Vasos anormals (artèries soltes)
- **Necrosi** (és la mort patològica d'una o diverses cèl·lules o de qualsevol teixit de l'organisme, provocada per un agent nociu, que ha provocat una lesió tan greu que no es pot reparar o curar)
- **Cèl·lules inflamatòries**
- Falta d'epiteli de tipus biliar

3.6 – TRACTAMENT PER A L'HEPATOCARCINOMA

El tractament del càncer de fetge té múltiples opcions, però cap d'elles és especialment eficaç. L'opció escollida depèn de l'estadi del tumor i de l'estat general del pacient. La classificació en estadis més utilitzada és la BCLC (*Barcelona Clinic Liver Cancer*), que determina diferents estratègies terapèutiques per a cada estadi:

- **Estadi 0 (tumor localitzat, molt inicial i sense símptomes):** Se sol practicar cirurgia per extirpar el tumor, amb un marge de seguretat del voltant per eliminar possibles cèl·lules residuals. És un tractament indicat si no hi ha factors que facin pensar en una recaiguda posterior. Aquests factors inclouen la cirrosi hepàtica i el mal funcionament del fetge. El 70% de persones a qui s'ha extirpat el tumor tenen una recaiguda dins dels primers 5 anys.
- **Estadi A (tumor localitzat, inicial i sense símptomes):** També es pot aplicar cirurgia, amb les mateixes condicions que a l'Estadi 0. Si no es pot operar hi ha l'opció de l'ablació percutània, que és la destrucció del tumor amb: injecció d'alcohol (alcoholització), congelació (criocirurgia), i amb microones o amb radiofreqüència (ones de calor). L'alternativa és el trasplantament de fetge, al qual opten persones amb determinades condicions: tenir menys de 65 anys, que el tumor no s'hagi estès, que hi hagi una sola massa tumoral de menys de 5 centímetres, o un màxim de 3 masses més petites de 3 centímetres i que no tingui altres malalties greus.
- **Estadi B (tumor amb diversos nòduls, però sense símptomes):** L'objectiu és controlar el tumor, però no eliminar-lo. Es practica quimioembolització o radioembolització intra-arterials, que consisteixen en aplicar fàrmacs o radiació a les artèries que van cap el tumor, per impedir que aquest es pugui alimentar i créixer. La quimioembolització es coneix amb les sigles TACE (Transarterial chemoembolization). Es poden fer en combinació amb quimioteràpia o radioteràpia.

- **Estadi C (tumors múltiples, amb símptomes, i que s'han començat a estendre):** la primera opció és la quimioteràpia, amb un medicament que es diu sorafenib, el qual explicaré més endavant. Fins fa pocs mesos, els pacients als quals no els feia efecte el sorafenib només es podien beneficiar de tractament pal·liatiu, perquè no hi havia més opcions. Ara, però, s'ha investigat el regorafenib, que és més eficaç que el sorafenib i té menys efectes secundaris.
- **Estadi D (malaltia estesa pel cos, sense opció curativa):** En aquest cas el tractament no és curatiu, sinó que es basa en el control de símptomes: el dolor, la fatiga, els trastorns digestius, etc. Es considera que la malaltia està tan avançada que cap tractament la pot eliminar.



Classificació en estadis segons la BCLC (*Barcelona Clinic Liver Cancer*).

* BSC : síndrome de Budd-Chiari (trombosis de las venas suprahepáticas)

• **TRACTAMENT DE L'HCC**

- **Tractament Quirúrgic:**
 - Resecció tumoral
 - Trasplantament hepàtic (TH)

- **Tractament no Quirúrgic:**
 - Quimioembolització transarterial (QE)
 - Radioteràpia transarterial
 - Ablació percutània per Radiofreqüència (RF)

- **Tractament Sistèmic:**
 - Quimioteràpia oral: sorafenib, regorafenib
 - Immunoteràpia: nivolumab

Dels següents tractaments explicaré més detalladament el trasplantament hepàtic i el sorafenib, que són els més comuns.

3.6.1 – TRANSPLANTAMENT HEPÀTIC

Consisteix en el canvi del fetge malalt d'una persona per un altre d'un donant (habitualment una persona morta amb el fetge en certes condicions: grandària, color i consistència). Hi ha variacions poc habituals: trasplantament auxiliar (el fetge del donant s'implanta sense extirpar el fetge del malalt) i trasplantament parcial (no s'implanta tot el fetge del donant, sinó una part d'aquest).

Malauradament, posa en perill la vida del pacient o indueix un deteriorament important de la seva qualitat de vida.

L'any 1963 es va realitzar el primer trasplantament hepàtic amb èxit en humans.

A Espanya, el número de donacions d'òrgans i trasplantaments de fetge suposen les taxes per milió d'habitants més elevades del món, i la mitjana de temps d'espera per al trasplantament hepàtic és menor que en la resta d'Europa.

De totes maneres, encara que aquestes xifres denoten un benefici en la supervivència, hi ha un creixement progressiu de les llistes d'espera, fet que comporta que un número considerable de pacients morin esperant un fetge per poder ser trasplantat. Per això, s'han posat en marxa programes de trasplantament hepàtic de donant viu: s'extirpa aproximadament la meitat del fetge a un donant viu (habitualment un familiar del receptor) i se li implanta al malalt. Gràcies a la gran capacitat de regeneració del fetge, tant el donant com el receptor poden mantenir una funció hepàtica normal a llarg termini.

El rebuig és una complicació important després del trasplantament hepàtic. No obstant això, en l'actualitat es disposa d'una important quantitat de fàrmacs immunosupressors. Aquests fàrmacs disminueixen la reacció immune de l'organisme davant estructures estranyes, pel que poden facilitar les infeccions o el desenvolupament de tumors. Els més utilitzats d'aquests fàrmacs immunosupressors són ciclosporina, tacrolimus, azatioprina, micofenolat mofetil i glucocorticoides.

El trasplantament hepàtic està indicat fonamentalment en:

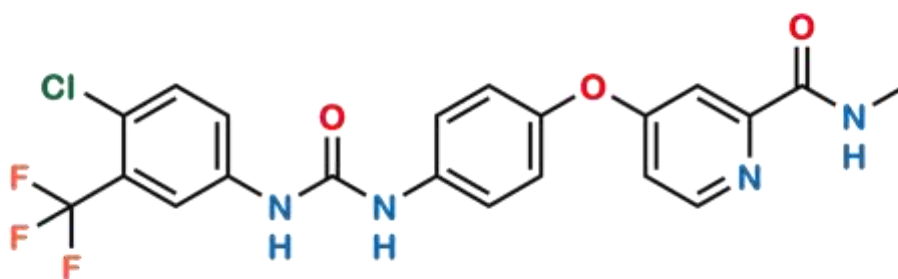
- Insuficiència hepàtica aguda greu (hepatitis fulminant)
- Cirrosi hepàtica, tumors hepàtics (limitats al fetge)
- Malalties metabòliques en les quals el fetge produeix una substància anòmala que és responsable d'una malaltia d'un altre òrgan.

3.6.2 – SORAFENIB

El Sorafenib és un tipus de teràpia que treballa dirigint-se a algun defecte específic en les cèl·lules del càncer, per tant disminueix els efectes secundaris causats pel dany a les cèl·lules sanes. Aquest medicament treballen directament amb dos receptors específics: el quinase RAF i els receptors de VEGF. El bloqueig del quinase RAF retarda la divisió de la cèl·lula i el creixement del tumor. En canvi, els receptors de VEGF són responsables de l'angiogènesi, o del desenvolupament dels gots sanguinis nous del tumor, així que el bloqueig d'aquests receptors ataca la font d'aliments del càncer.

El Sorafenib va ser aprovat per l'Administració de l'Aliment i de la Droga (FDA) dels Estats Units per a tractar pacients amb càncer renal avançat. També s'està estudiant en moltes altres malalties, incloent: melanoma, hepatocelular (càncer primari del fetge), pulmó, colorectal, i sarcomes.

Aquest medicament augmenta un 44% les expectatives de vida dels pacients respecte si no prenguessin aquest medicament. Això representaria allargar la vida uns quants mesos més.



Molècula de sorafenib

3.7 – SUPERVIVÈNCIA A L'HEPATOCARCINOMA

El pronòstic del càncer de fetge depèn del seu estadi, del dany en la funció hepàtica i de la presència o no de cirrosi hepàtica. És a dir, el millor pronòstic es dona en pacients amb càncer hepàtic en estadis inicials, sense repercussió de la funció hepàtica i sense cirrosi.

En més del 70% dels casos l'hepatocarcinoma es diagnostica com una malaltia irreversible o en estadi avançat, i per tant, amb un pronòstic molt pobre.

La taxa de supervivència sense tractament, a l'any és del 29%, als 2 anys del 18% i als 3 anys només del 8%. Quan la cirurgia pot ser completa, en l'estadi inicial, la supervivència als 5 anys és major del 50%, però existeix un risc de recurrència després de la cirurgia superior al 70% als 5 anys.

En els tumors irreversibles que es tracten amb tècniques locals la supervivència als 5 anys pot arribar al 50% només en els pacients amb funció hepàtica bona. No obstant això, la taxa de recaiguda als 5 anys oscil·la entre el 80% i el 100%.

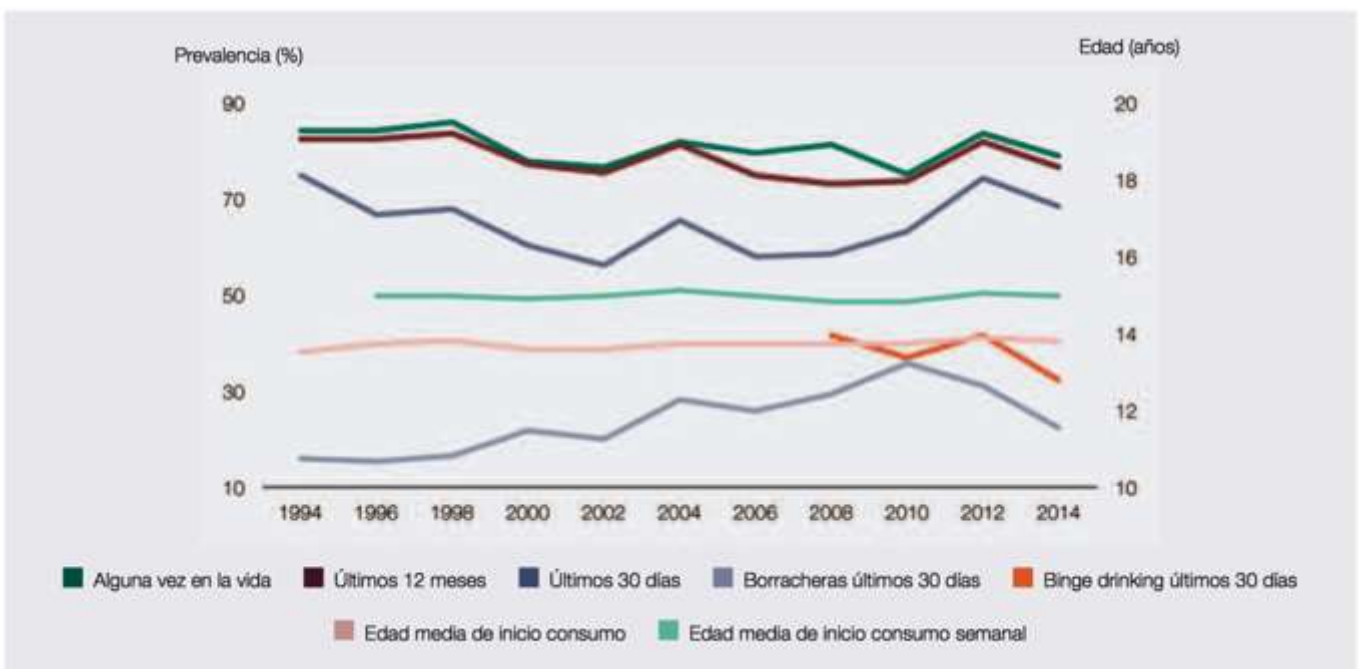
Els tumors més avançats tenen una supervivència mitjana curta, que no supera l'any.

4 – INCIDÈNCIA D'ALCOHOLISME ACTUAL EN ADOLESCENTS

L'adolescència representa la transició de la infantesa a l'edat adulta, és a dir, és un període de desenvolupament on la persona adquireix les capacitats físiques y psíquiques que la identificaran com desenvolupada, especialment les sexuals, que permeten la reproducció. En ser una etapa de profunds canvis, està marcada per la inestabilitat i, en la majoria de les ocasions, la incertesa i la confusió dels propis joves davant els seus canvis.

Durant aquesta fase de desenvolupament, els joves es mostren molt més vulnerables davant alguns riscos no saludables, com el consum d'alcohol i drogues.

La gràfica següent mostra l'evolució del consum de begudes alcohòliques, de borratxeres, de binge drinking (prendre 5 o més gots de begudes alcohòliques en un interval aproximat de dues hores), de l'edat mitjana d'inici del consum i de l'edat mitjana d'inici del consum setmanal, entre estudiants d'ESO de 14-18 anys (%) en Espanya des de l'any 1994 al 2014.



	1994	1996	1998	2000	2002	2004	2006	2008	2010	2012	2014
Alguna vez en la vida	84,1	84,2	86,0	78,0	76,6	82,0	79,6	81,2	75,1	83,9	78,9
Últimos 12 meses	82,7	82,4	83,8	77,3	75,6	81,0	74,9	72,9	73,6	81,9	76,8
Últimos 30 días	75,1	66,7	68,1	60,2	56,0	65,6	58,0	58,5	63,0	74,0	68,2
Borracheras últimos 30 días	16,1	15,3	16,5	21,7	20,2	28,0	25,6	29,1	35,6	30,8	22,2
Binge drinking últimos 30 días	-	-	-	-	-	-	-	41,4	36,7	41,8	32,2
Edad media de inicio consumo	13,5	13,7	13,8	13,6	13,6	13,7	13,7	13,7	13,7	13,9	13,8
Edad media de consumo semanal	-	15,0	15,0	14,9	15,0	15,1	15,0	14,8	14,8	15,1	15,0

FONT: OEDT. Enquesta sobre l'ús de drogues en ensenyaments secundaris a Espanya

En referència als últims 30 dies, l'any 2014, aproximadament 2 de cada 3 joves (68,2%) ha begut alcohol, observant que el 22,2% dels estudiants ha sofert una borratxera en aquest període i el 32,2% ha realitzat binge drinking.

Per altra banda, el consum d'alcohol en els últims 30 dies, va seguir una tendència creixent des de 2008 fins a 2012, veient que el 2014 aquesta es trenca amb una disminució. No obstant això, la tendència des del punt de vista històric segueix sent ascendent.

En línia amb el descens del consum d'alcohol vist en el paràgraf anterior, també ha disminuït la proporció d'estudiants que s'han emborratxat o han realitzat binge drinking en els últims 30 dies. Les borratxeres van arribar al nivell màxim l'any 2010 (35,6%), van disminuir l'any 2012 (30,8%) i el 2014 aquesta evolució descendent va continuar (22,2%).

Pel que fa a l'edat d'inici en el consum, l'any 2014, aquells que han pres begudes alcohòliques alguna vegada situen el primer consum en els 13,8 anys de mitjana, semblant a la mitjana que s'ha anat obtenint en l'última dècada. El consum setmanal d'alcohol comença de mitjana als 15 anys, mostrant estabilitat al llarg de la sèrie històrica.

Segons altres dades que no apareixen a la taula, es pot dir que en relació amb l'edat dels estudiants, la majoria dels alumnes de 14 anys ja ha

provat l'alcohol alguna vegada en la seva vida (60,1%). Aquells que mai han begut alcohol representen una minoria en els grups de 17 i 18 anys, en els quals aproximadament 9 de cada 10 ja han pres begudes alcohòliques alguna vegada.

Cal indicar que, en el grup de 14 anys, el consum d'alcohol alguna vegada en la vida ha experimentat certa variabilitat en la sèrie històrica, el valor ha oscil·lat entre el 49,7% registrat en 2010 i el 71,5% obtingut en 1998, amb un rang de 21,8 punts. Es tracta d'un grup d'edat clau, atès que els primers consums es produeixen, de mitjana, al voltant d'aquesta edat. No obstant això, es contemplen grups de major edat, els quals el valor de l'indicador ha variat en menor mesura al llarg dels anys. Si es pren el grup de 15 anys, el rang es redueix als 12,1 punts (obtinguts entre el 82,5% [1998] i el 70,4% [2002]) i en el de 17 anys, als 5 punts (entre el 92,8% [1998] i el 87,8% [2010]).

En relació amb la disminució del consum d'alcohol respecte a l'any 2012 es pot observar que prové dels grups més joves, de 14 i 15 anys. Així al 2012, el 65,9% dels adolescents de 14 anys havia pres alcohol en alguna ocasió, percentatge 5,8 punts superior al registrat l'any 2014. Igualment, si al 2012 el 77,7% dels estudiants de 15 anys havia consumit alcohol alguna vegada, al 2014 es redueix fins al 73,7%. Per contra, els alumnes de major edat, aquells de 17 i 18 anys, registren l'any 2014 estadístiques semblants a les observades en el mesurament anterior.

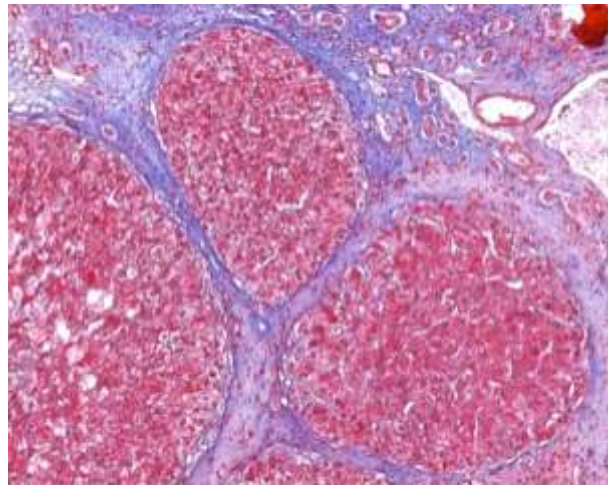
Considerant els 30 dies previs a la realització de l'enquesta, aproximadament la meitat dels adolescents de 14 anys reconeixen un consum d'alcohol (48,4%), percentatge que s'incrementa fins al 61,3% en el grup de 15 anys. En tots dos grups hi ha hagut una disminució pràcticament de 5 punts pel que fa a l'any 2012, en línia amb l'escenari descrit anteriorment per al consum alguna vegada en la vida.

Aquesta tècnica em servirà més endavant per distingir la hipercelularitat, els nuclis atípics, les cèl·lules inflammatòries i la necrosi en els teixits que analitzaré de HCC.

5.1.2 – TRICRÒMIC DE MASSON

És una tinció tricròmica perquè utilitza 3 colorants. Amb aquesta tinció podem diferenciar el nucli cel·lular, el citoplasma i les fibres de col·lagen.

- Fibres de col·lagen: Blau
- Citoplasma: Vermell
- Nuclis: Lila/ marró.



Part del teixit hepàtic d'un pacient amb cirrosi, 10x

Aquesta tècnica em servirà per identificar la fibrosi ens els teixits hepàtics, per l'abundància de fibres de col·lagen que hi ha en aquest estadi i per la facilitat de distingir-les amb el tricròmic.

5.1.3 – IMMUNOHISTOQUÍMICA

Aquesta tinció ens permet diagnosticar processos de fibrosi. La immunohistoquímica es basa en la utilització d'anticossos que s'uneixen específicament a una substància que es vol identificar (antigen primari). Aquests anticossos poden tenir unit un enzim o pot trobar-se unit a un anticòs secundari que reconeix i s'uneix al primari. Aplicat a un teixit orgànic, l'anticòs primari s'uneix específicament al substrat i s'aprofita l'activitat enzimàtica per visualitzar la unió. D'aquesta manera s'aconsegueix un complex substrat-anticossos-enzim unit al lloc on es trobi el substrat i mitjançant l'activació de

l'enzim amb l'addició del seu substrat es genera un producte identificable on es trobi el complex.

En la part de la cèl·lula que observem color serà la part d'aquesta on es localitzarà la proteïna que volem estudiar.

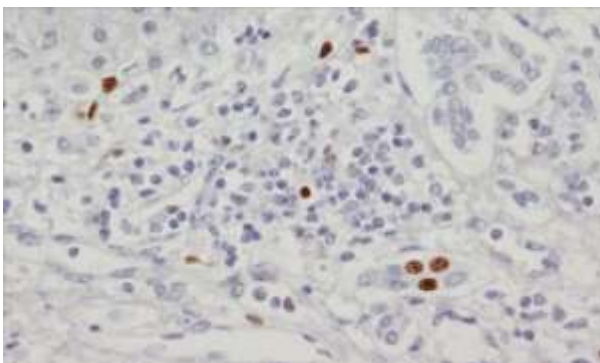
En el cas de les immunohistoquímiques el que tenim són talls de teixit, on podem observar els diferents tipus cel·lulars que conformen aquell teixit. També, però, podem tenir cèl·lules que hem separat d'un teixit per poder estudiar de forma individual el seu comportament. La tinció d'aquestes cèl·lules s'anomena immunocitoquímiques.

Dues de les proteïnes que es poden visualitzar amb aquesta tinció són: la Ki-67 i la E-cadherina.

- **PROTEÏNA KI-67:**

La Ki-67 és una proteïna que es troba en les cèl·lules, el nombre d'unitats d'aquesta augmenta a mesura que les cèl·lules es preparen per dividir-se i formar-ne de noves. Mitjançant un procediment de coloració és possible mesurar el percentatge de cèl·lules tumorals que s'estaran dividint. Quantes més cèl·lules positives (que contenen Ki-67) hi ha, tenyides de marró, més gran és la velocitat amb què es divideixen per formar noves cèl·lules. En el cas del càncer com més elevat és el percentatge més avançat està el tumor.

També utilitzaré la immunohistoquímica amb Ki-67 per a veure la diferència de presència de nuclis amb la capacitat de dividir-se més fàcilment.



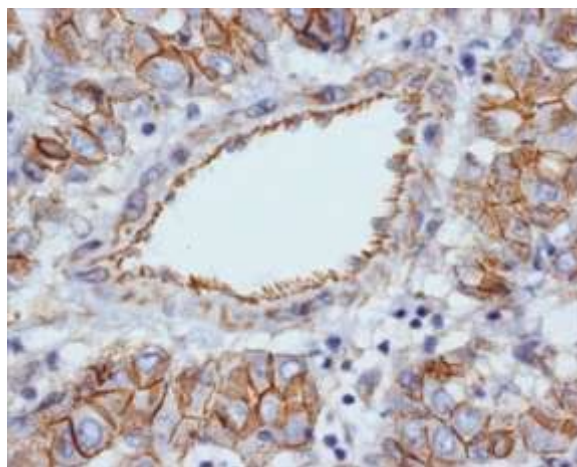
Part del teixit hepàtic del pacient 5 amb cèl·lules tumorals que s'estan dividint (de color marró), 40x

- **PROTEÏNA E-CADHERINA:**

Hi ha diversos tipus de molècules que formen associacions entre cèl·lules del mateix tipus. Les cadherines són les principals molècules d'adhesió cel·lular. Aquestes són glicoproteïnes transmembranals responsables de les unions cèl·lula-cèl·lula per mantenir la integritat dels teixits animals. És una molècula d'uns 700-750 aminoàcids. Com el seu nom indica són molècules d'adhesió calci-dependents. L'adhesió cel·lular a través de cadherines té un paper important en processos fisiològics com la morfogènesi, l'estabilització i la diferenciació dels teixits i l'establiment de la polaritat en els teixits.

Si el teixit del pacient és normal, les cèl·lules estan adherides entre elles, per tant la proteïna quedarà marcada a la membrana de les cèl·lules. Quan són cancerígenes no estan tan juntes, per poder-se desplaçar, fer metàstasi i proliferar. Aquestes cèl·lules tumorals, també poden tenir una gran quantitat de la proteïna si fan petits grups per a desplaçar-se.

Aquesta tècnica em servirà per fer la relació ràtio nucli-citoplasma a partir de l'ImageJ en els teixits amb HCC i en els controls per veure la diferència. Utilitzaré aquelles mostres fetes amb E-cadherina perquè em facilitarà distingir millor els contorns de les cèl·lules.



Part del teixit hepàtic del pacient 5, 60x

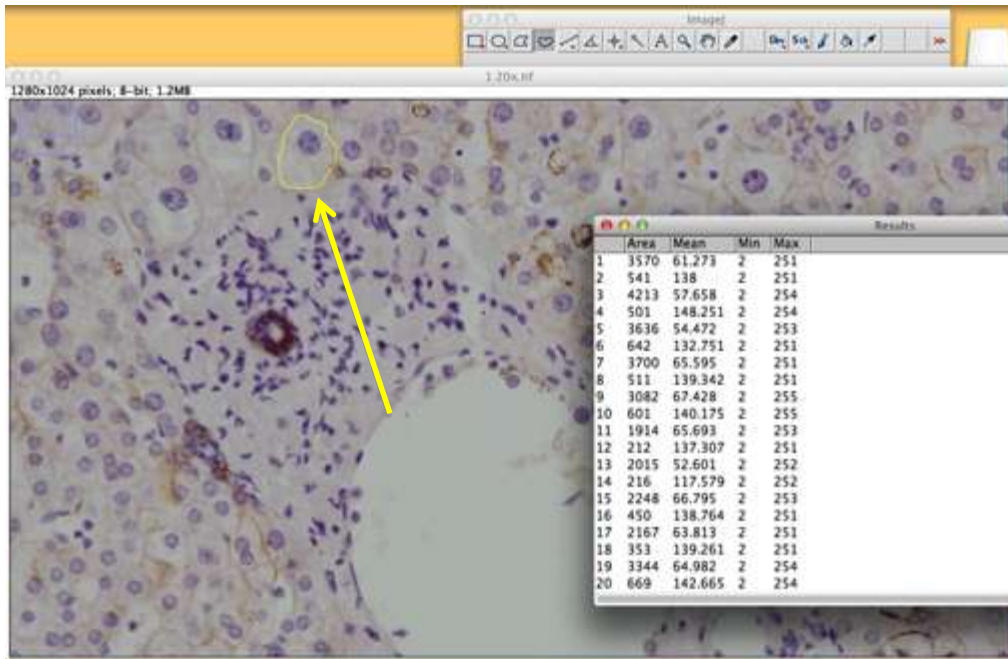
5.2 – ANÀLISI D'IMATGES DE TEIXITS HEPÀTICS:

Com he dit abans, en aquest apartat analitzaré diverses imatges de diferents teixits de pacients. Les mostres que he utilitzat pertanyen a vuit pacients amb càncer de fetge (P1, P2, P3, P5, P6, P7, P8, P9), dos controls (control 1 i control 2), una fibrosi I-II i dos de cirrosi, tots havien passat per l'Hospital de Bellvitge. Les analitzaré mitjançant les característiques marcades anteriorment: relació nucli-citoplàsmica, cèl·lules gegants tumorals, hipercelularitat, nuclis nus atípics, cèl·lules inflamatòries i necrosi.

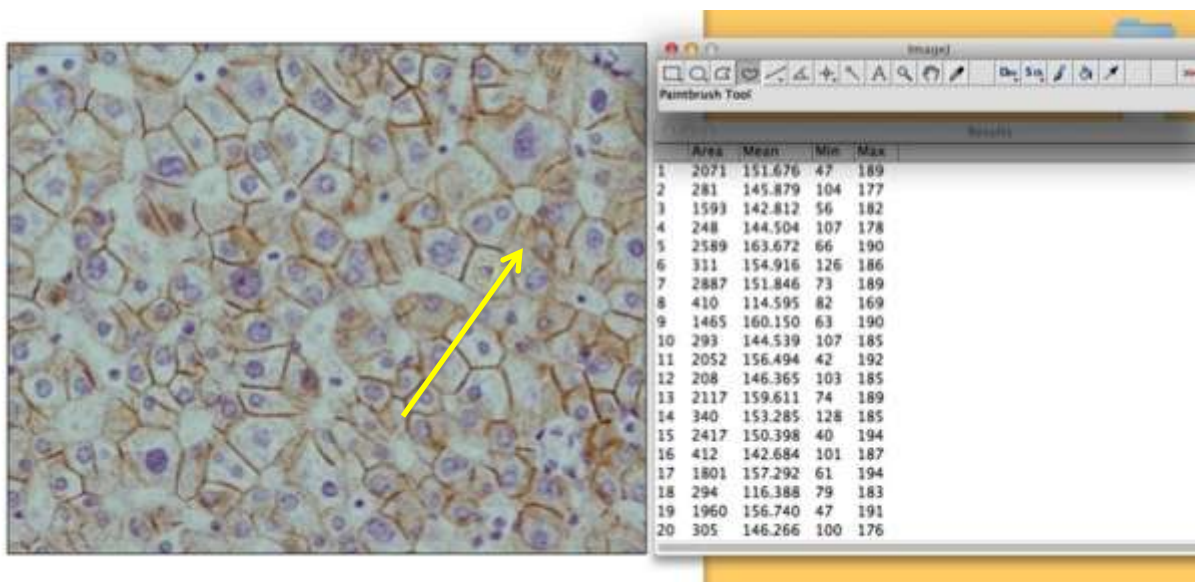
Per analitzar les dues primeres característiques m'hauré d'ajudar d'una plataforma oberta per l'anàlisi d'imatges científiques, anomenada ImageJ. Aquesta aplicació me la van aconsellar els estudiants que estaven fent les seves tesis del doctorat al laboratori.

5.2.1 – RELACIÓ NUCLI-CITOPLÀSMICA AUGMENTADA

Tal com indica el títol de l'apartat, la relació entre el nucli i el citoplasma d'una mateixa cèl·lula augmenta si el teixit on es troba està afectat de càncer. Això és degut a que les cèl·lules al mutar canvien de forma, normalment augmenten, a l'igual que el nucli. Llavors, la relació nucli-citoplàsmica augmenta; però sempre els valors son mes petits que 1, perquè el nucli sempre és més petit que el citoplasma, tant els normals com els tumorals. A continuació, ho comprovaré analitzant teixits de pacients i altres d'un control (mostra d'un pacient que no pateix la malaltia) per a veure la diferència. Per a fer-ho utilitzaré teixit amb la tinció d'immunohistoquímica amb el marcador d'E-cadherina, ja que es podran distingir les cèl·lules més fàcilment. Agafaré deu cèl·lules a l'atzar de dos teixits control i de dos amb HCC. A aquestes 40 cèl·lules els calcularé la superfície del nucli i del citoplasma amb l'ImageJ.



Part del teixit hepàtic del control 1, 20x



Part del teixit hepàtic del control 2, 20x

Control 1 20X

	Àrea Nucli	Àrea Citoplasma	Relació nucli-citoplàsmica
1	541	3570	0,15
2	501	4213	0,12
3	642	3636	0,18
4	511	3700	0,14
5	601	3082	0,20
6	212	1914	0,11
7	216	2015	0,11
8	450	2248	0,20
9	353	2167	0,16
10	669	3344	0,20

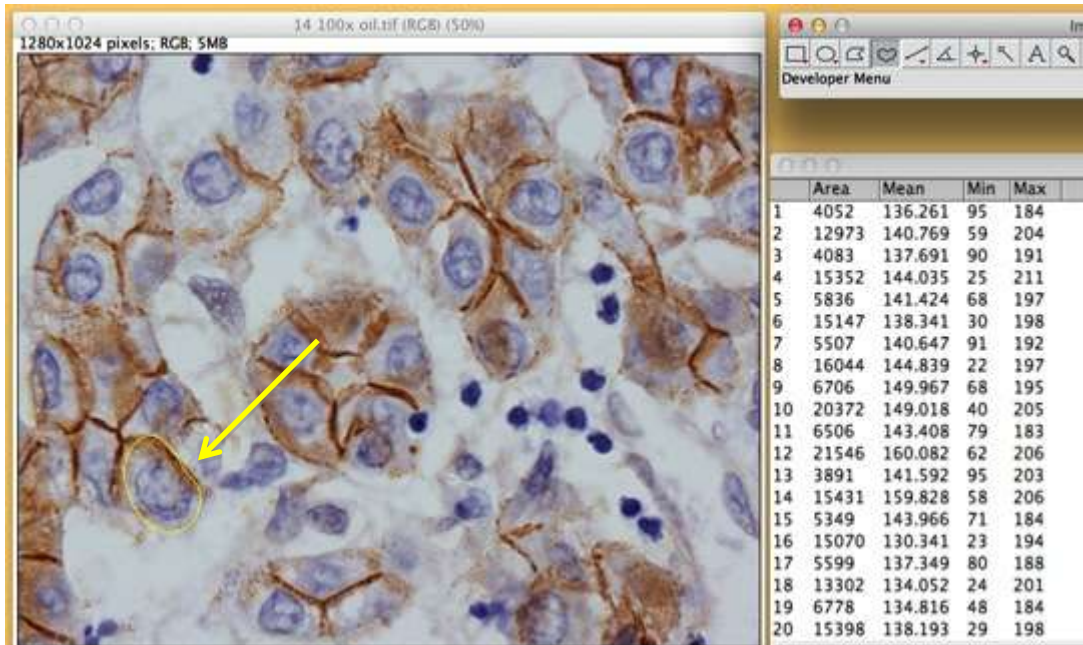
Mitjana: 0,16

control 2 20X

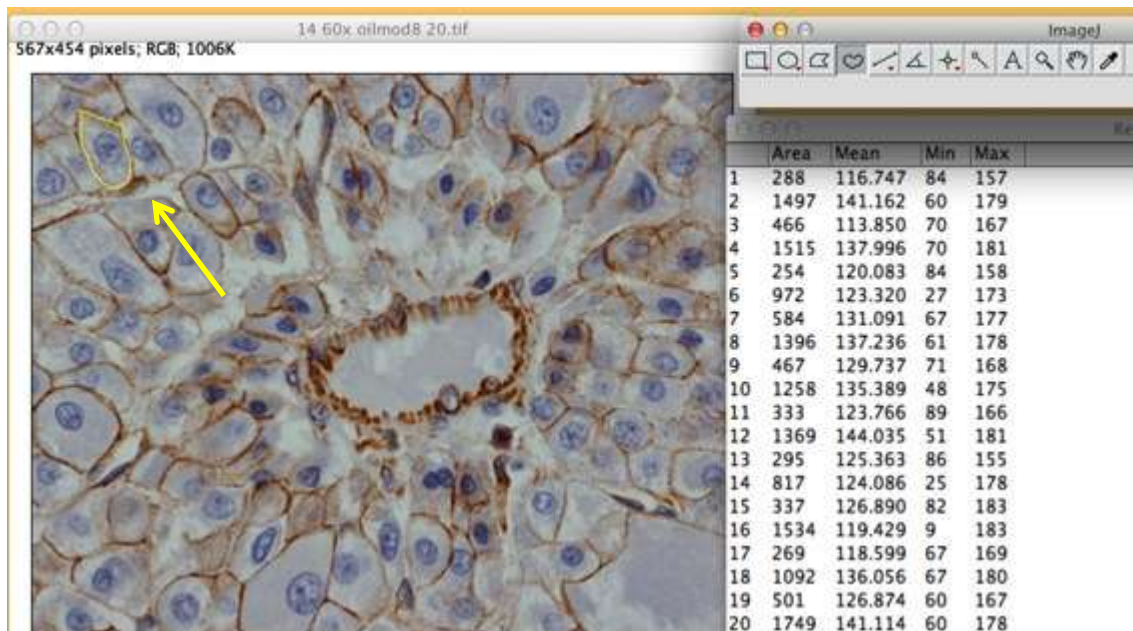
	Àrea Nucli	Àrea Citoplasma	Relació nucli-citoplàsmica
1	281	2071	0,14
2	248	1593	0,16
3	311	2589	0,12
4	410	2887	0,14
5	293	1465	0,20
6	208	2052	0,10
7	340	2117	0,16
8	412	2417	0,17
9	294	1801	0,16
10	305	1960	0,16

Mitjana: 0,15

Les dues taules corresponen a la relació nucli-citoplasmàtica dels dos teixits hepàtics diferents (control 1 i control 2). La mitjana d'aquesta és de 0,16 i 0,15. Un valor molt baix, ja que l'àrea del nucli comparada amb la de tot el citoplasma és molt petita.



Part del teixit hepàtic del pacient 5, 100x



Part del teixit hepàtic del pacient 1, 60x

Pacient 5 100X

	Àrea		Relació nucli-citoplàsmica
	Nucli	Citoplasma	
1	4052	12.973	0,31
2	4083	15.352	0,27
3	5836	15.147	0,39
4	5507	16.044	0,34
5	6706	20.372	0,33
6	6506	21.546	0,30
7	3.891	15.431	0,25
8	5.349	15.070	0,35
9	5.599	13.302	0,42
10	6.778	15.398	0,44

Mitjana: 0,34

Pacient 1 60X

	Àrea		Relació nucli-citoplàsmica
	Nucli	Citoplasma	
1	288	1.497	0,19
2	466	1.515	0,31
3	254	972	0,26
4	584	1.396	0,42
5	467	1.258	0,37
6	333	1.369	0,24
7	295	817	0,36
8	337	1.534	0,22
9	269	1.092	0,25
10	501	1.749	0,29

Mitjana: 0,29

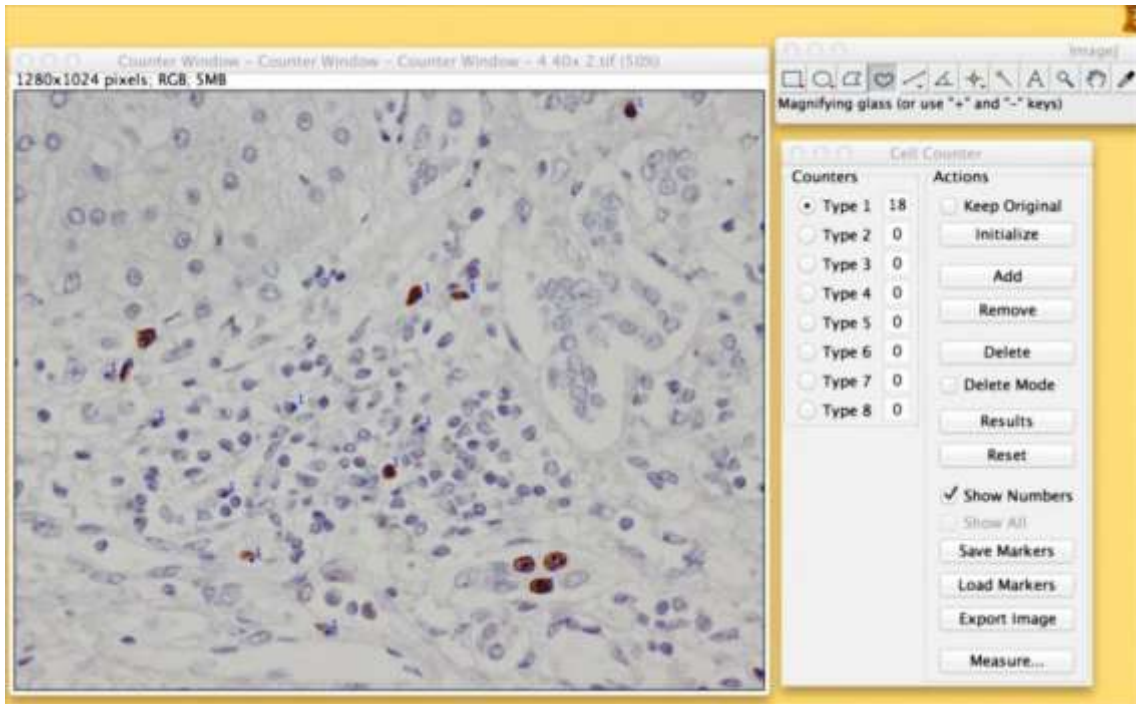
La mitjana de la relació nucli-citoplasmàtica en els pacients 5 i 1 és de 0,34 i 0,29 respectivament.

S'observa que aquesta relació augmenta respecte els valors obtinguts en els controls perquè en les cèl·lules tumorals augmenta la superfície del nucli sense augmentar la del citoplasma.

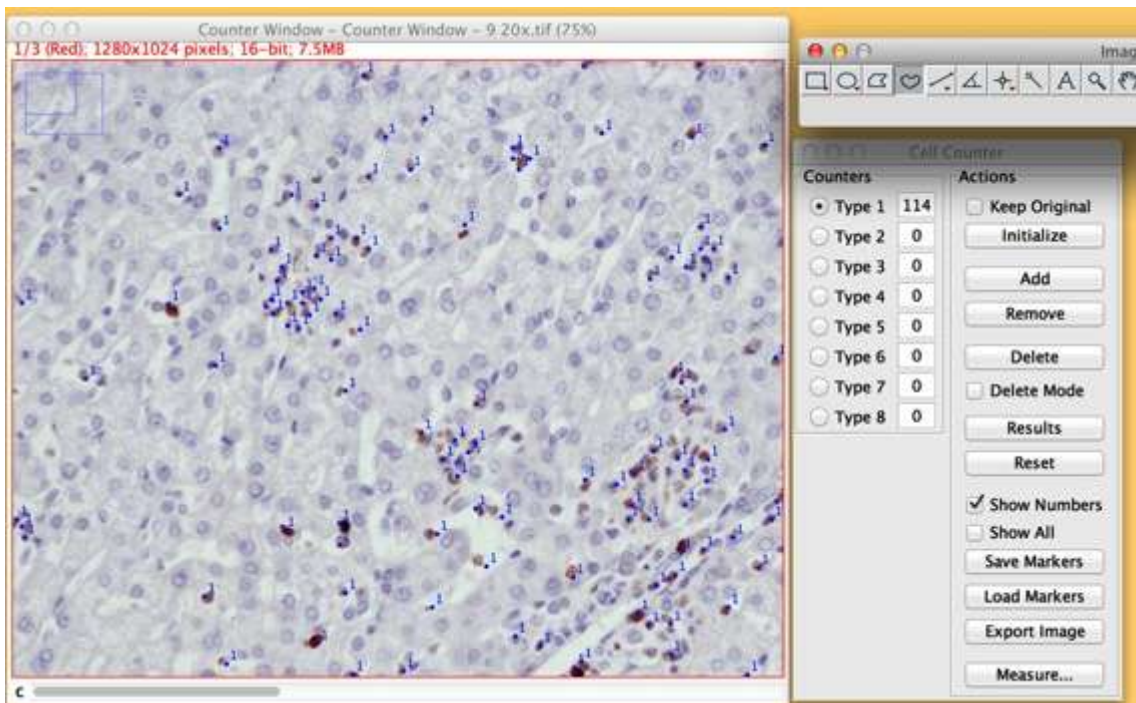
5.2.2 – PROLIFERACIÓ AUGMENTADA

En les cèl·lules tumorals si els hi apliquem la tinció de Ki-67 veiem com queden marcades amb el color característic marró. Això representa un increment de la proteïna corresponent a la proliferació, és a dir a dividir-se amb una velocitat molt més ràpida que la normal. Per això si en un camp el percentatge de cèl·lules marrons és major a un altre amb menys cèl·lules marcades significa que el tumor és més avançat. En les següents imatges de dos teixits hepàtics amb HCC veurem una gran quantitat de nuclis amb Ki-67, a diferència del control.

El nombre de nuclis marrons entre les dues imatges de teixit amb HCC és molt diferent per l'augment utilitzat en el microscopi.

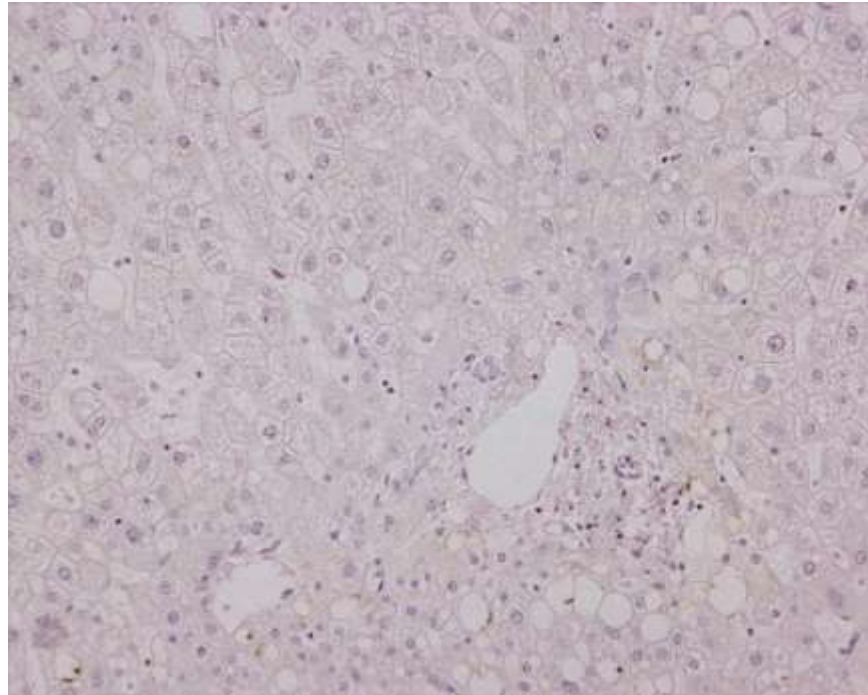


Part del teixit hepàtic del pacient 5, 40x



Part del teixit hepàtic del pacient 1, 20x

En la primera imatge del teixit hepàtic del pacient 5 en el mateix camp hi ha 18 nuclis amb Ki-67, mentre que en la del pacient 1 n'hi ha 114. En les dues imatges podem comprovar que corresponen a pacients amb HCC per la gran presència de nuclis en procés de proliferació.

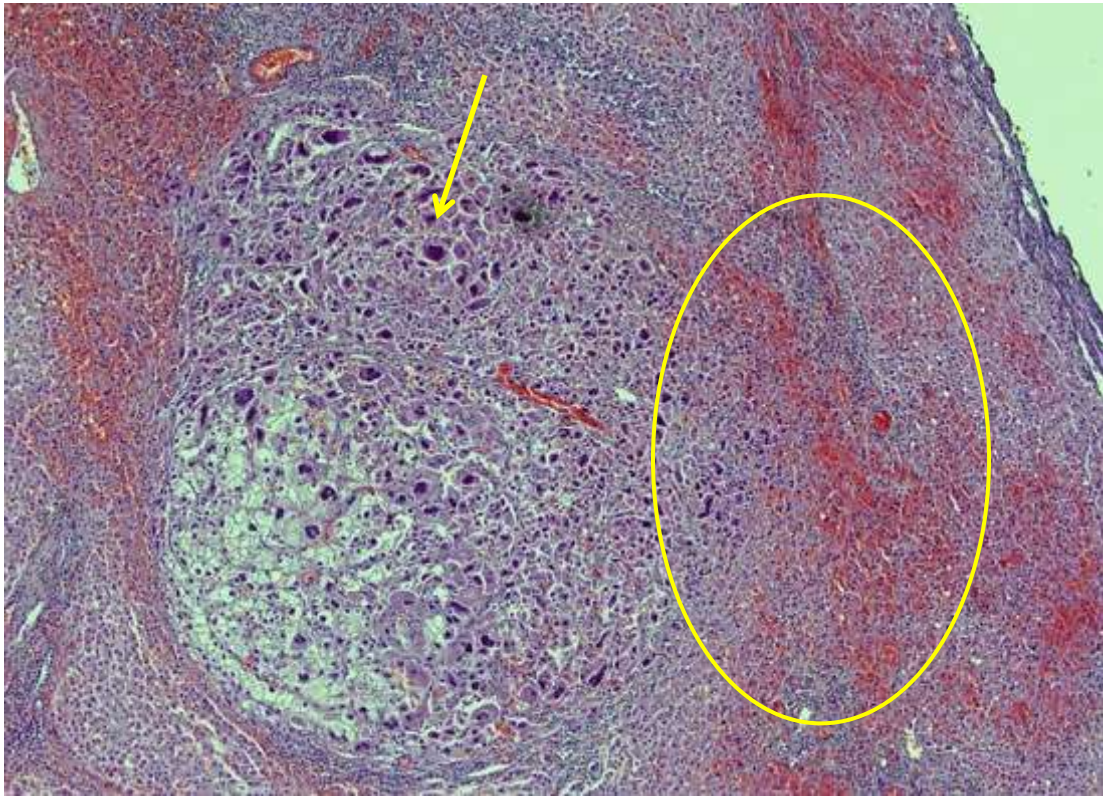


Part del teixit hepàtic del control 2, 20X

En aquest control podem veure la no existència de proliferació ja que no hi ha cap nucli amb Ki-67.

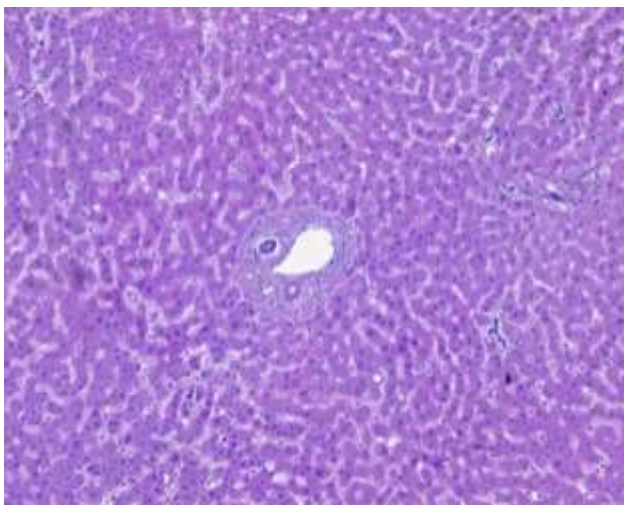
5.2.3 – HIPERCEL·LULARITAT

Anomenem hipercel·lularitat a la presència d'un nombre anormal de cèl·lules. Al ser híper, vol dir que augmenta notablement. Això és degut a la gran capacitat que tenen les cèl·lules tumorals a proliferar. En la tinció de hematoxilina-eosina es pot veure molt bé aquesta hipercel·lularitat ja que el contrast dels nuclis es veu molt ben definit.

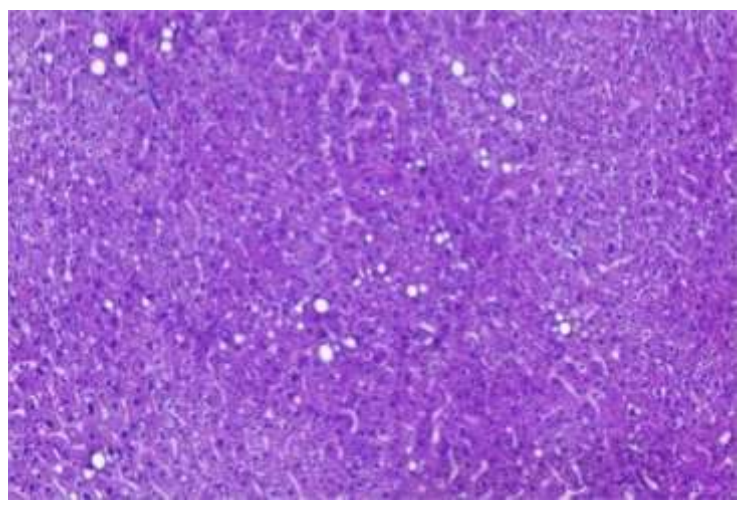


Part del teixit hepàtic del pacient 1, 4x

En aquesta imatge d'un pacient amb HCC es pot veure clarament el contrast del nombre de cèl·lules. On hi ha més punts liles (nuclis) és on hi ha més hiperce·l·lularitat (cercle groc). Per altra banda, en el mateix camp podem veure cèl·lules més espaiades les unes amb les altres i on els nuclis no predominen tant. En aquest camp també hi trobem cèl·lules gegants tumorals (fletxa groga). Els llocs on hi ha trossos vermellosos és perquè hi ha sang infiltrada entre les cèl·lules.



Part del teixit hepàtic del control 1, 10x

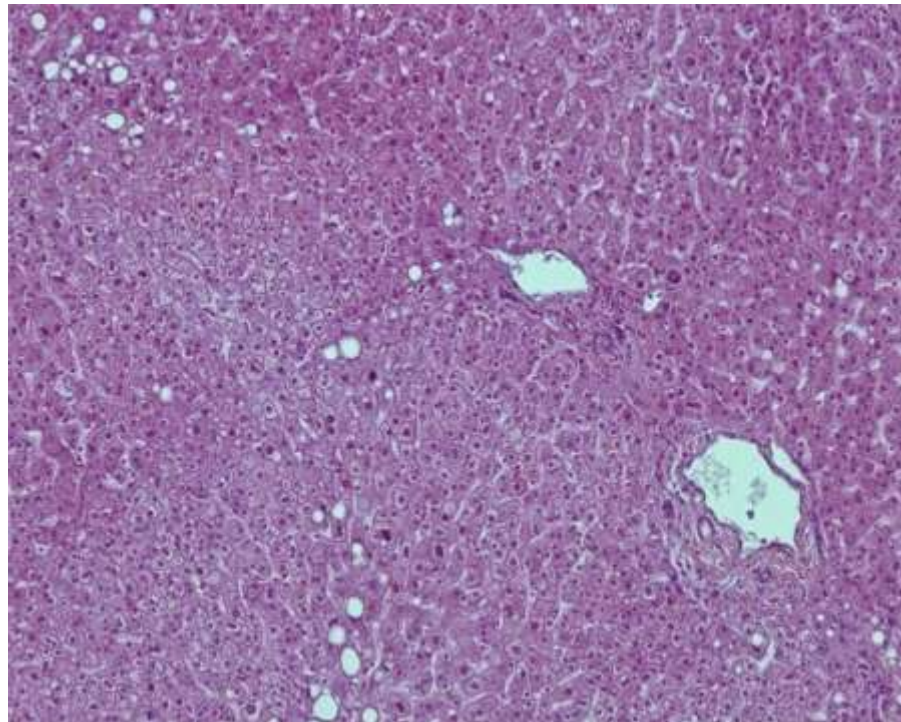


Part del teixit hepàtic del control 2, 10x

Pel que fa a aquestes dues imatges de dos controls diferents podem veure que el nombre de cèl·lules és el normal, no hi ha cap zona que destaquï per hipercel·lularitat.

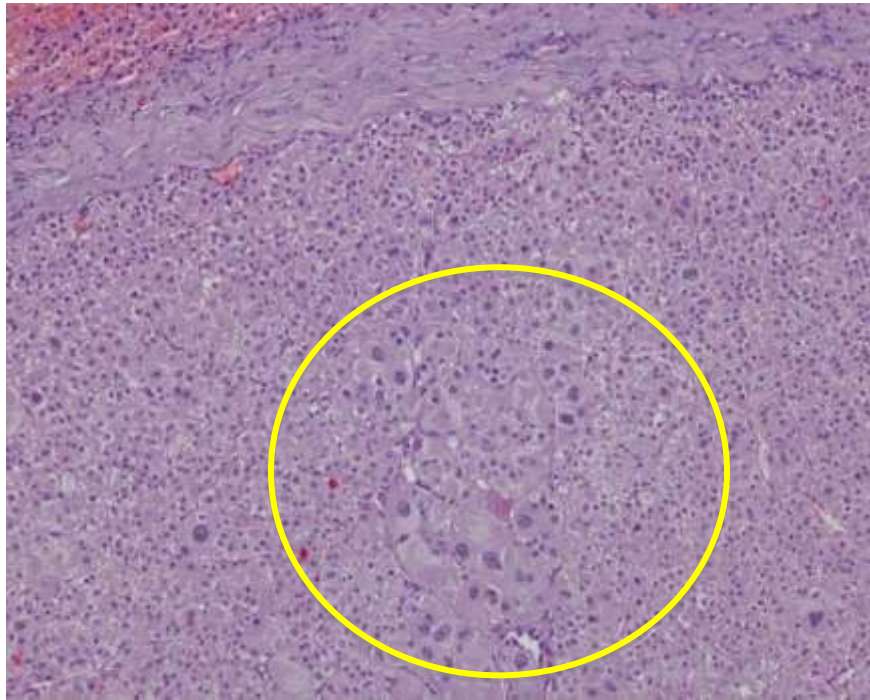
5.2.4 – NUCLIS NUS ATÍPICS

Els nuclis nus atípics són característics de les cèl·lules cancerígenes ja que, al patir mutacions, l'estructura es deforma i sobretot també el nucli. Amb la tinció d'hematoxilina-eosina es pot analitzar molt millor perquè es distingeix el nucli lila més definidament.

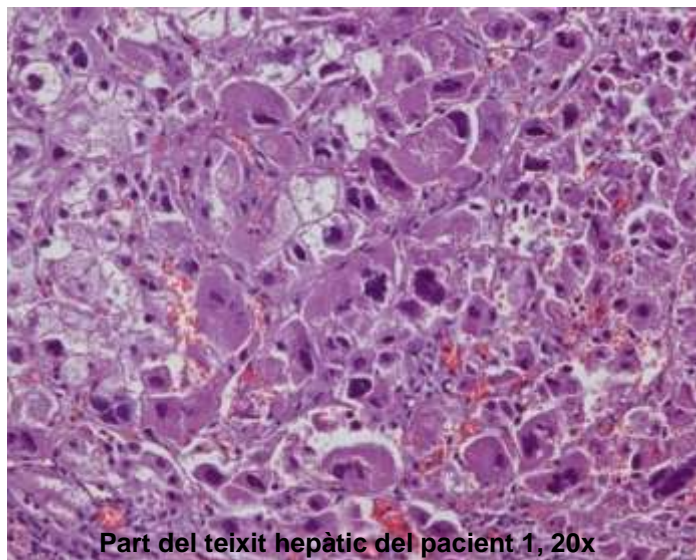


Part del teixit hepàtic del control 2, 10x

En aquest control podem veure perfectament com tots els nuclis, en general, són de la mateixa mida o bé són proporcionals a la seva cèl·lula.



Part del teixit hepàtic del pacient 1, 10x



Part del teixit hepàtic del pacient 1, 20x

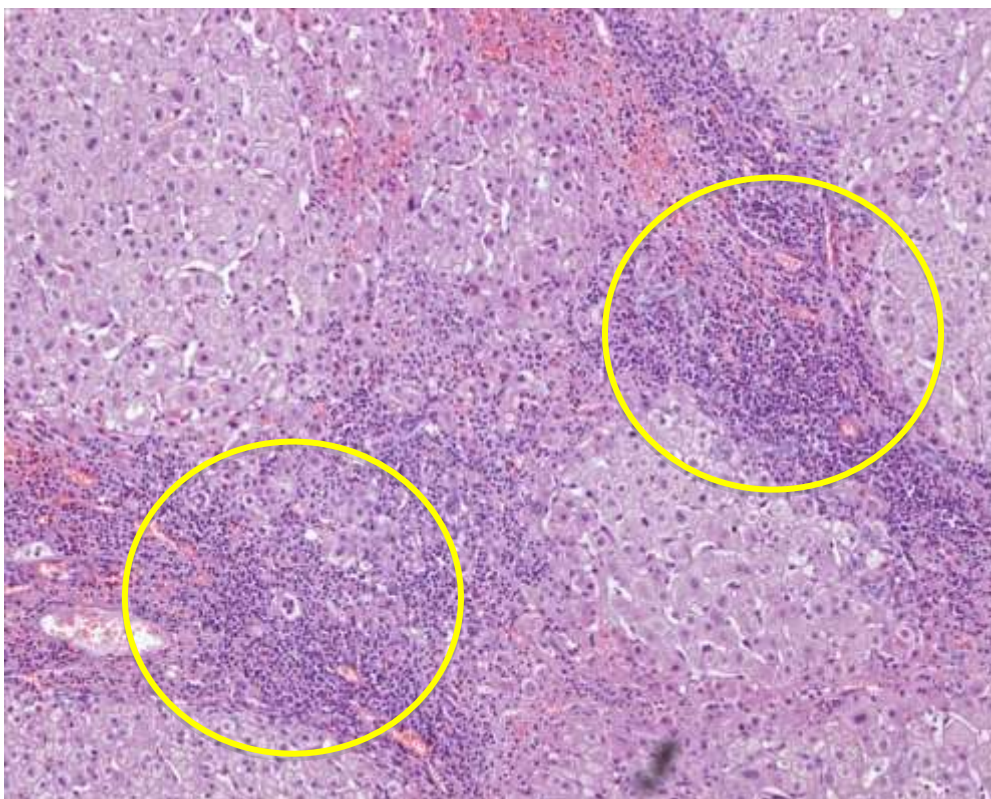
Al contrari del control 2, aquestes imatges presenten nuclis molt deformats, tant de forma com de mida. En la primera imatge podem veure el contrast entre les cèl·lules dels extrems d'aquesta i les que estan encerclades. Aquestes últimes són molt més grans i fins i tot alguna no té nucli.

Pel que fa a la segona imatge es pot veure clarament els nuclis atípics, són gairebé tots diferents, no es veu una estructura determinada sinó més aviat un "descontrol".

5.2.5 – CÈL·LULES INFLAMATÒRIES

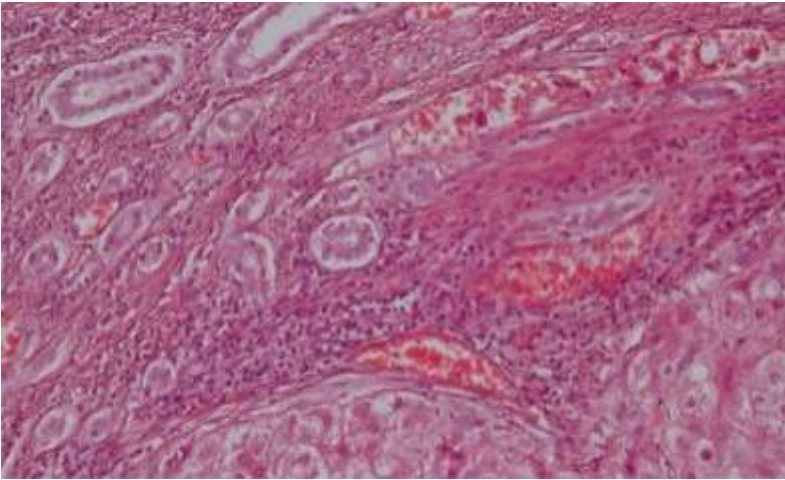
El sistema immunològic pot actuar eliminant cèl·lules tumorals però paradoxalment també pot contribuir a la iniciació, promoció i progressió del càncer.

Actualment es coneix que en ambdós processos hi ha una poderosa activació de cèl·lules mare, proliferació cel·lular i inflamació. Per això, si el procés inflamatori no és resolt o és crònicament provocat per injúria repetitiva o altres factors, pot donar com a resultat un procés de cicatrització descontrolat que promou la formació del càncer. En aquests casos, els pacients tenen un gran nombre de cèl·lules inflamatòries del sistema immunològic. Normalment es troben al voltant dels vasos sanguinis ja que arriben a través d'ells. No obstant, en la imatge següent podem veure com estan escampades per gran part del teixit.



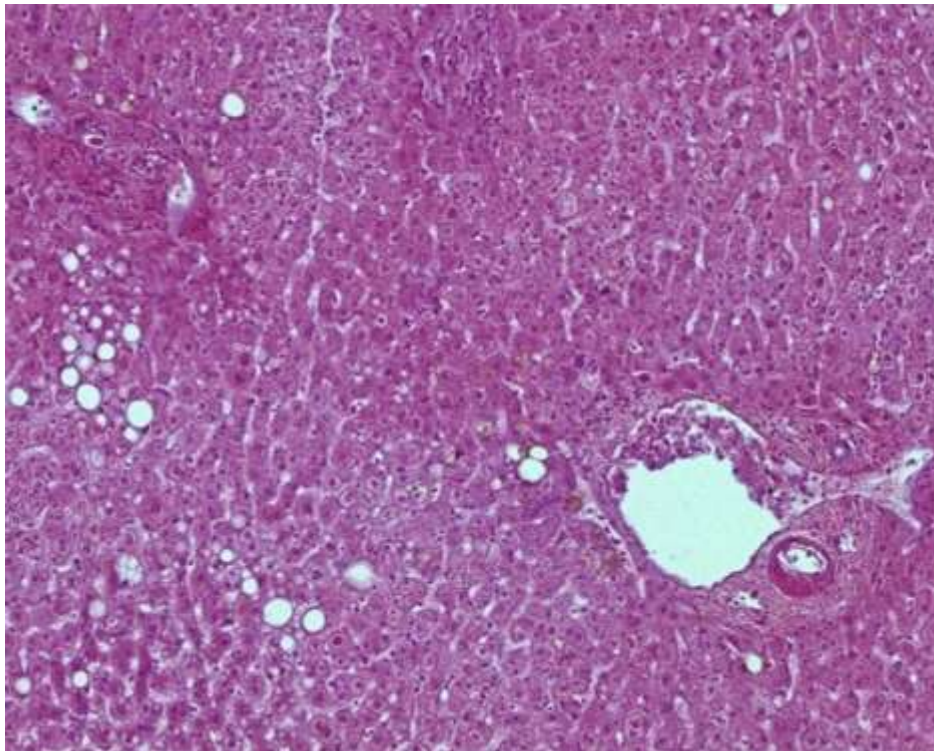
Part del teixit hepàtic del pacient 5, 10x

Amb la tinció d'hematoxilina-eosina es pot analitzar molt millor perquè es distingeixen els nuclis liles més definidament.



Part del teixit hepàtic del pacient 6, 20x

En aquesta imatge d'un pacient afectat per HCC podem veure les cèl·lules inflammatòries com predominen sobretot als vasos sanguinis i surten d'ells per dirigir-se al teixit.



Part del teixit hepàtic del control 2, 10x

En aquest control podem veure com al voltant dels vasos sanguinis, que en aquest camp formen el contorn d'un peix, no hi ha existència d'acumulació molt abundant de cèl·lules inflammatòries.

5.2.6 – NECROSI

La necrosi és la mort patològica d'una o diverses cèl·lules o de qualsevol teixit de l'organisme, provocada per un agent nociu, que ha provocat una lesió tan greu que no es pot reparar o curar.

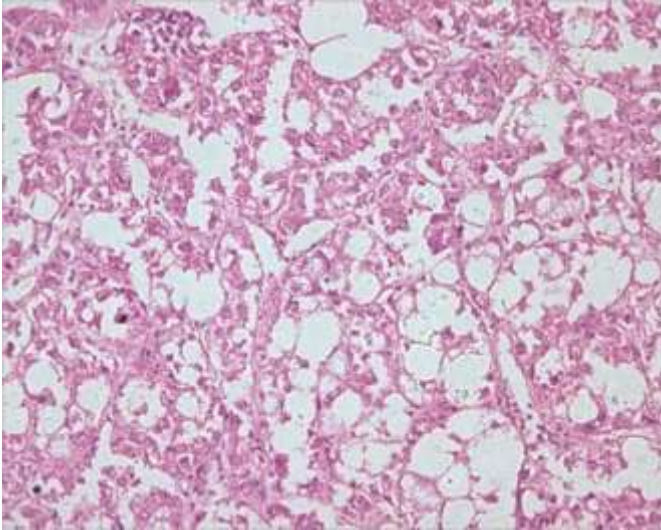
Tots els tumors sòlids en un determinat moment careixen d'un bon subministre de sang i queden privats d'oxigen i nutrients. Això comporta una important mort per necrosi, en el teixit quedarà l'esquelet de les cèl·lules mortes que es veurà blanc.

També faré servir imatges amb la tinció hematoxilina-eosina perquè es veurà molt millor el contrast dels colors càlids de la tinció amb el blanc de les cèl·lules sense vida.

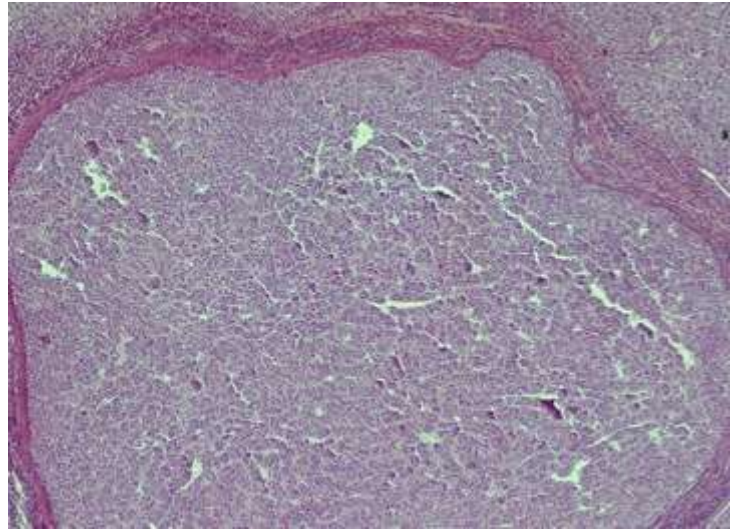


Part del teixit hepàtic del pacient 1, 4x

En la imatge anterior s'observa molts buits blancs per tot el teixit, indicat amb la fletxa. El punt gran vermell es un vas sanguini on s'ha fet el tall horitzontalment.

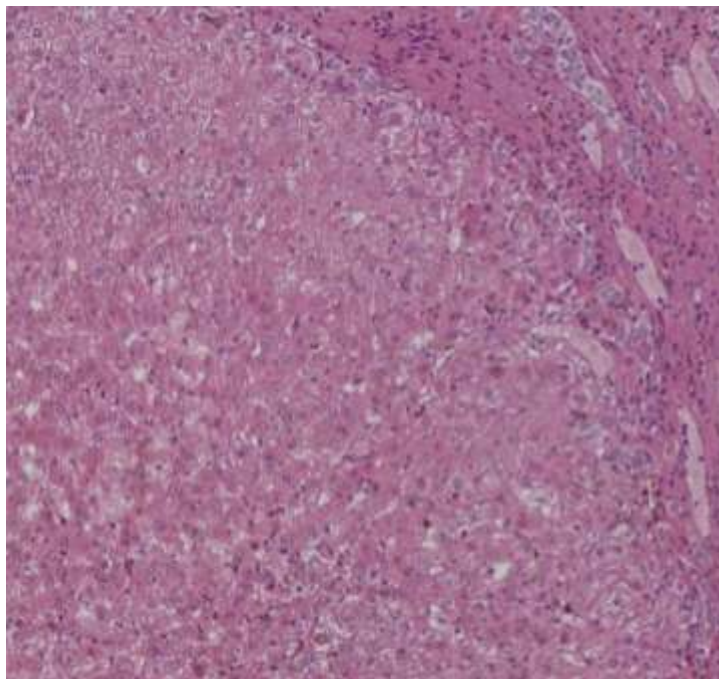


Part del teixit hepàtic del pacient 9, 20x



Part del teixit hepàtic del pacient 1, 4x

En aquestes dues també hi ha un gran contrast de necrosi, sobretot en la primera on es veuen molts pocs nuclis amb vida i molts espais buits. Pel que fa a la segona està millor que la de l'esquerra però tot i així també té "tires" de necrosi tal com es pot observar.



Part del teixit hepàtic del control 2, 10x

En aquest control, no hi ha a gairebé cap zona amb necrosi, excepte algun punt blanc que podria ser d'apoptosi, mort cel·lular programada.

5.3 – MODEL ANIMAL D'INVESTIGACIÓ

El ratolí de laboratori és un rosegador, usualment de l'espècie *Mus musculus*, que s'utilitza en la investigació científica. El seu cariotip està compost per 40 cromosomes i solen ser albins.

Per a cada experiment s'escullen ratolins de laboratori que pertanyin a un mateixa soca pura o endogàmica. Els individus d'un mateixa soca porten els mateixos gens, per la qual cosa es facilita la comparació dels efectes dels diferents tractaments experimentals (fàrmacs, entorn físic, etc.), sense que es produeixi confusió a causa de les diferències genètiques. La soca més utilitzat ha estat el ratolí albi.

Les característiques que han fet del ratolí de laboratori el model biològic i biomèdic més utilitzat en les investigacions científiques són:

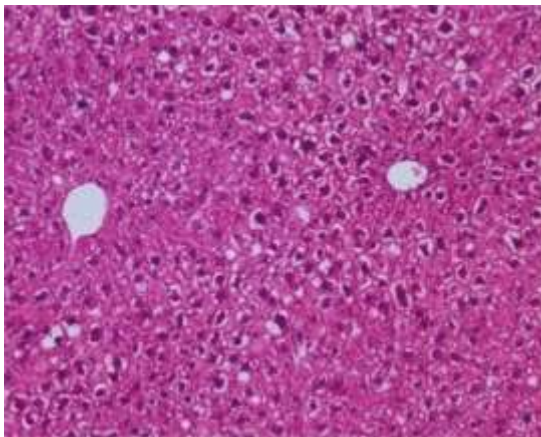
- El seu fàcil maneig.
 - La seva grandària apropiada per a la cria i manipulació.
 - No requereixen massa cures.
- Tenen un sistema immunològic similar al dels éssers humans.
- Posseeixen un breu període de gestació (19-21 dies). Tenen un alt nombre de cries que es deslleten ràpidament.
- En ser mamífers euteris (infraclasse de mamífers formada pels placentaris i tots aquells mamífers extints que són més propers als placentaris que a qualsevol altre grup) posseeixen un genoma molt similar al dels éssers humans.

En el laboratori, durant la realització de les pràctiques em van explicar el seu mètode de treball amb ratolins per a l'obtenció de resultats aplicables en la investigació de fibrosi i d'HCC.

Per tal d'aconseguir que un ratolí desenvolupi un tumor de HCC, quan té 15 dies de vida se li subministra una dosi de DEN (dimetilnitrosamina). Al cap de 6, 9 o 12 setmanes se sacrifica i se li extreu el fetge per ser analitzat. Per a obtenir controls realitzen el mateix procediment però sense punxar DEN als ratolins.

D'altra banda, per tal que desenvolupi fibrosi, quan té 8 setmanes de vida se li comença a injectar tetraclorur de carboni (CCl_4). Rep dues dosis per setmana durant un mes. En acabar se sacrifica i se li extreu el fetge.

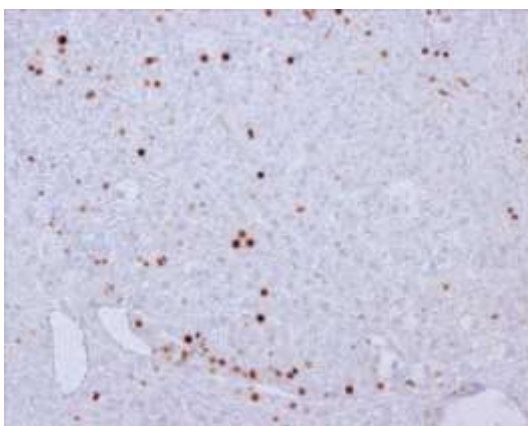
Amb els fetges que s'extreuen mitjançant tècniques de tincions s'obtenen mostres com les següents:



Part del teixit hepàtic d'un ratolí amb DEN, 40x

En aquesta mostra de DEN veiem com els nuclis comparats amb el citoplasma corresponent són molt més grans del normal.

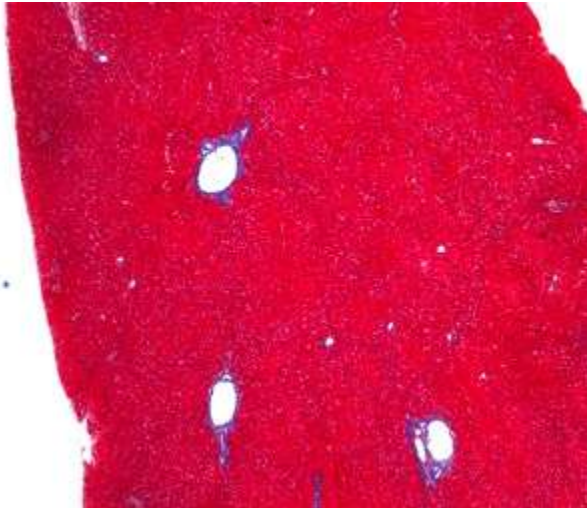
S'ha utilitzat la tinció de hematoxilina-eosina.



Part del teixit hepàtic d'un ratolí amb DEN, 20x

En aquesta mostra de DEN podem observar la nombrosa existència de nuclis amb Ki-67, per tant el tumor està en una fase molt avançada.

S'ha utilitzat la tinció de l'immunohistoquímica amb el marcador de Ki-67.



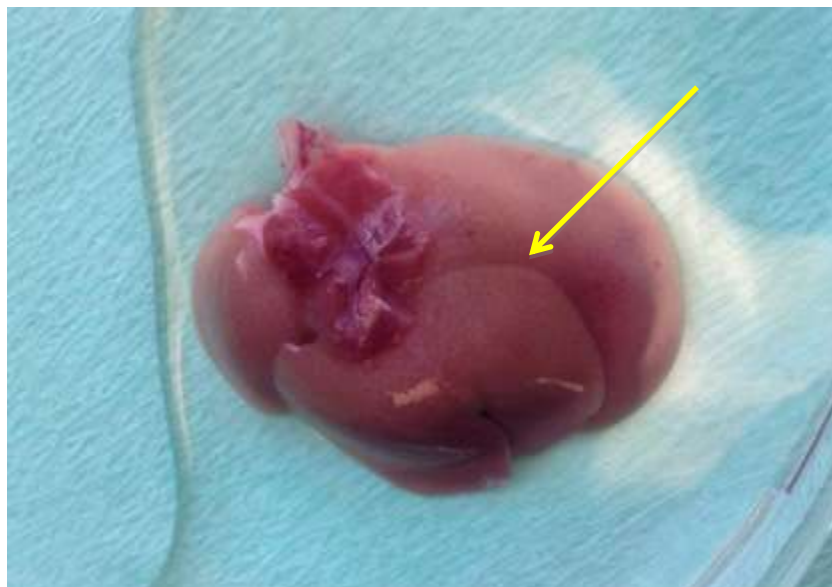
En aquesta mostra d'un control podem observar que només hi ha existència de fibres de col·lagen al voltant de les tríades.

S'ha utilitzat la tinció del tricròmic de Masson.

Part del teixit hepàtic d'un ratolí control, 100x

En aquestes tres mostres diferents podem veure que les característiques que determinen l'existència de tumor o aquelles que són pròpies dels controls són semblants a les dels teixits dels humans.

A més de poder veure el tumor a partir de les mostres, també es pot distingir a simple vista com en el cas del fetge d'aquest ratolí. Té l'òrgan d'un color més rosat i a part també es poden observar zones blanquinoses que correspondrien a aquest augment de fibres de col·lagen que uneixen les tríades entre si.



Imatge del fetge extret d'un ratolí amb DEN

6 – CONCLUSIONS

L'elaboració d'aquest treball de recerca no només m'ha enriquit personalment descobrint més sobre el càncer de fetge, sinó que m'ha donat la possibilitat d'ampliar els meus coneixements i així poder concloure'l responnent les qüestions que m'he plantejat a l'inici:

- Té cura aquest tipus de càncer?

L'hepatocarcinoma, al ser una malaltia molt greu i la causant de moltes morts, no té una cura definitiva. Tot i tenir un tumor d'estadi 0, el 70% de persones a qui s'ha extirpat el tumor tenen una recaiguda dins dels primers 5 anys. Encara que s'hi apliqui cirurgia sempre poden quedar restes que a llarg temps acabin sent un altre tumor. A més a més, no tothom pot tenir l'opció viable d'eliminar el tumor mitjançant un trasplantament.

Per altra banda, quan la malaltia ja està en estadis com el B i el C no es pot eliminar el tumor sinó que s'ha de controlar perquè no esdevingui una gran metàstasi. S'opta per quimioteràpia i algun altre medicament com el sorafenib; ambdós no solucionen el problema, només allarguen la vida del pacient.

Per tant podem dir que si la malaltia es troba en estadis pocs desenvolupats o en d'altres que ho estan més, no es cura mai del tot perquè sempre hi ha recaigudes, excepte en els trasplantaments sense rebuig. I no cal mencionar els estadis on la malaltia escurça la vida de la persona a mesos.

- Quin és el percentatge de supervivència de la malaltia?

Al veure que un 70% dels casos l'hepatocarcinoma es diagnostica com una malaltia irreversible, menys d'un 30% de persones que

pateixen HCC sobreviuen. Però la majoria d'aquesta xifra té seqüeles i fins i tot recaigudes.

- Té un origen en concret o simplement un ADN mutat?

L'origen de l'hepatocarcinoma té varies causes però cap fa referència a una mutació del DNA.

Les principals causes que deriven al càncer de fetge són: la cirrosi, l'hepatitis B, l'hepatitis C i la diabetis mellitus.

La cirrosi és la principal causa del desenvolupament del càncer de fetge i és la conseqüència d'una fibrosi avançada. La fibrosi pot ser causada per: el virus de l'hepatitis B i C, el consum en excés d'alcohol i drogues, disfunció del metabolisme, fetge gras i diabetis. D'un 5% a un 30% de les persones que pateixen cirrosi, al cap de cinc anys desenvoluparan HCC.

Entre els individus que consumeixen entre 200 ml i 400 ml d'alcohol diàriament durant un període de 15 anys o més, aproximadament una tercera part desenvoluparà cirrosi hepàtica. Pel que fa als altres dos terços desenvoluparan fetge gras o altres problemes hepàtics lleus. (Nota: dades extretes d'un estudi del Dr. Alejandro Soza, hepatòleg, gastroenteròleg i President de l'Associació Xilena d'Hepatologia).

Alguns tipus de virus d'hepatitis com la B i la C són causant de l'HCC. És més, l'hepatitis B es troba en el 80-90% dels pacients amb càncer de fetge.

El 60% dels pacients majors de 50 anys que pateixen diabetis mellitus desenvolupen una fibrosi avançada, per tant amb més facilitat de patir HCC.

Les pràctiques al laboratori em van servir per veure aplicada la teoria sobre les característiques dels teixits hepàtics i per a poder diferenciar per mi mateixa les malalties de fibrosi, cirrosi i hepatocarcinoma del fetge a través del microscopi.

- De quines fases consta el càncer de fetge?

Segons la classificació de la BCLC (Barcelona Clinic Liver Cancer) l'hepatocarcinoma es divideix en 5 estadis.

Estadi 0, on el tumor es troba localitzat en una fase molt inicial i sense símptomes.

Estadi A, on el tumor també es troba localitzat, està en un estat més avançat i sense símptomes.

Estadi B, on el tumor consta de diversos nòduls i sense símptomes.

Estadi C, on hi ha múltiples tumors que es comencen a estendre. Aquí apareixen els primers símptomes.

Estadi D, on la malaltia es troba estesa pel cos sense cap opció curativa.

- Amb la incidència d'alcohol consumit actualment per el adolescents, pot augmentar la malaltia en la població al llarg dels anys ?

A l'inici del treball em vaig fer la pregunta anterior i la meua hipòtesi va ser que si els adolescents continuaven bevent tant com ho fan, llavors a la llarga es veuria reflectit en l'increment del càncer de fetge. Al ser adolescent i envoltar-me de gent que estan en aquesta etapa, em vaig adonar que avui en dia els adolescents beuen en excés molt sovint, ja sigui en festes o en quedar amb amics. També vaig veure

que començaven a consumir alcohol des de molt joves i encara em va confirmar més que la hipòtesi podia ser certa.

Però més endavant quan ho vaig estar investigant a través d'articles vaig veure que estava molt equivocada perquè la incidència d'alcoholisme en adolescents des de l'any 1994 fins al 2014 havia estat molt igual. Per tant no havia incrementat.

També em va acabar de refutar la meua teoria un article de Bruno Sangro, director de la Unidad de Hepatología de la Clínica Universitaria de Navarra, i de Javier Bustamante, metge adjunt del Servicio de Gastroenterología y Hepatología del Hospital de Cruces de Baracaldo. Aquests dos hepatòlegs afirmaven que hi havia un possible augment de la incidència del tumor a causa d'un augment dels factors de risc. Per una banda, la cirrosi i el virus de l'hepatitis C; en ser una infecció que tarda temps a produir el tumor, s'observa que els pacients infectats en les últimes dècades desenvolupen ara el càncer. Un altre factor que cada vegada té més importància es l'obesitat i la síndrome metabòlica, independentment de l'existència de cirrosi.

Per tant, si que hi ha un augment de l'incidència en l'hepatocarcinoma però no és degut exactament al consum d'alcohol en els adolescents sinó a altres factors que ara tenen més importància.

Aquest treball es podria expandir estudiant el perquè en determinats llocs del món hi ha més existència d'hepatocarcinoma i si hi ha algun factor que ho provoqui. També es podria demanar al laboratori l'edat i el sexe de totes les mostres que els arriben dels pacients per poder estudiar la incidència del càncer de fetge respecte aquests dos factors.

Les hores de dedicació que m'ha comportat realitzar aquest treball m'han ajudat a conèixer molt més sobre el fetge, que fins fa poc era un òrgan al qual no li donava la gran importància que té; i això m'omple de satisfacció.

7 – BIBLIOGRAFIA

- Don W. Fawcett, M.D (1987): *Tratado de Histología*. Madrid, Mc Graw-Hill
- Paul R. Wheater, H. George Burkitt, Victor G. D: *Histología Funcional, texto y atlas en color*. Barcelona, Jims.
- L. C. Junquera, José Carneiro (2000): *Histología básica, texto y atlas*. Barcelona, Masson.
- Michael H. Ross, Gordon I. Kaye, Wojciech Pawlina (2005): *Histología, texto y atlas color con biología celular y molecular*. Panamericana.

8 – WEBGRAFIA

8.1 – TEXT

- 18/05/17: <http://www.albi-espana.org/cat/enfermedad-higado.php>
- 22/06/17: : <http://asscat-hepatitis.org/cat/informat-mes/fibrosi-cirrosi-hepatiques/>
<https://www.myliverexam.com/es/conocer/>
- 23/06/17: <https://www.youtube.com/watch?v=RyP-inLmDmA>
- 05/07/17: informació obtinguda a l'Idibell a base de teòrica
- 10/08/17: <http://www.enciclopedia.cat/EC-GEC-0228896.xml>
- 18/08/17: <http://www.cuidateplus.com/familia/adolescencia/diccionario/problemas-alcohol-adolescencia.html>
- 21/08/17: <https://mmegias.webs.uvigo.es/2-organos-a/imagenes-grandes/digestivo-higado.php?pagina=4>
- 28/08/17: http://www.jano.es/ficheros/sumarios/1/0/1762/49/00490060_LR.pdf
- 29/08/17: <https://es.oncolink.org/tratamiento-del-cancer/quimioterapia/oncolink-rx/sorafenib-nexavar-r>
<http://asscat-hepatitis.org/cat/informat-mes/es-una-greu-consequencia-de-les-hepatitis-virals/>
- 03/09/17: http://diposit.ub.edu/dspace/bitstream/2445/36639/1/SPA_TESI.pdf
- 21/09/17: <http://onahepatitis.org/fibrosis-hepatica/>
- 13/10/17: http://www.canceronline.cl/index.php?option=com_content&view=article&id=51&Itemid=56
- 21/10/17: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20214618>
- 28/10/17: http://www.pnsd.msssi.gob.es/profesionales/sistemasInformacion/informesEstadisticas/pdf/2016_INFORME_OEDT.pdf
- 28/10/17: <http://hepatitis.cl/617/cirrosi-hepatica>
- 28/10/17: <https://www.aecc.es/SobreElCancer/CancerPorLocalizacion/cancerdehigado/Paginas/pronostico.aspx>
- 29/10/17: <https://psicologiaencancer.com/cancer-de-fetge/>
- 29/10/17: http://www.ub.edu/web/ub/ca/recerca_innovacio/recerca_a_la_UB/instituts/institutsparticipats/idibell.html
- 31/10/17: <http://www.hepatomur.com/un-nuevo-agente-biolgico-mejora-la-supervivencia-frente-al-hepatocarcinoma/>

8.2 – BANC DE FOTOS

26/06/17: <http://www.livescience.com/images/i/000/051/053/original/human-liver.jpg?1369868219>

<https://www.cancer.gov/images/cdr/live/CDR668855.jpg>

04/07/17: fotos pròpies de l'Idibell

03/09/17: <https://mmegias.webs.uvigo.es/2-organos-a/imagenes-grandes/digestivo-higado.php?pagina=20>

03/09/17: http://diposit.ub.edu/dspace/bitstream/2445/36639/1/SPA_TESI.pdf

12/09/17: https://www.google.es/search?q=aparell+digestiu&client=safari&rls=en&dcr=0&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwitvta1zanWAhUQaVAKHVuTAC4Q_AUICigB&biw=1040&bih=738#imgrc=W_HwxMz-916RIM:+

30/09/17: <http://asscat-hepatitis.org/cat/caracterizat-un-subgrup-de-tumor-hepatic-que-respondria-a-immunoterapia/>

28/10/17: <http://hepatitis.cl/617/cirrosis-hepatica>

28/10/17: http://www.pnsd.msssi.gob.es/profesionales/sistemasInformacion/informesEstadisticas/pdf/2016_INFORME_OEDT.pdf

31/10/17: https://www.synzeal.com/content/images/thumbs/0018179_sorafenib.png