

Adenoma de ductos biliares en Boga (*Leporinus obtusidens*) del río Paraná

Carolina Flores Quintana

Instituto de Ictiología. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Nordeste.
Sargento Cabral 2139. Corrientes (Argentina)
e-mail: carolina@vet.unne.edu.ar

Resumen

La mayoría de las condiciones patológicas básicas diagnosticadas en los animales terrestres también son observadas en los peces. Algunos factores son identificados como responsables, en diferentes grados, de la formación de tumores. Existe asociación entre contaminantes ambientales con riesgo potencial para la salud humana y la ocurrencia de neoplasias en organismos acuáticos. Las neoplasias hepáticas que derivan del epitelio de conductos biliares son poco frecuentes en los animales. Experimentalmente fueron inducidas por carcinógenos químicos en mamíferos y en peces. En este trabajo se describen las características histopatológicas de una neoplasia hepática hallada en un ejemplar de boga (*Leporinus obtusidens*) capturado en el tramo medio del río Paraná, Argentina. No se encontraron lesiones en otros órganos. Se discute la presencia de centros melanomacrófagos en relación a los mecanismos de defensas del huésped por ser considerados indicadores potenciales del estado de salud de los peces y la presentación de células rodlet vinculadas a condiciones ambientales tóxicas subletales, anteriormente propuestas como potenciales biomarcadores de contaminación.

Palabras clave: neoplasia hepática, peces, contaminación, biomarcadores

Summary

Adenoma of biliar ducts in Boga (*Leporinus obtusidens*) of the Paraná river

Most of the basic pathological conditions diagnosed in land animals are observe in fish. Some factors are identified as responsible for tumours growth, in different ranks. There is an association among environmental pollutants with potential risk for human health and the neoplasm occurrence in aquatic organisms. The neoplasm of liver source from the biliar ducts epithelium, it is not frequently in the animals. Experimentally, they were induced by chemical carcinogens in mammals and fish. In this report, we described the hystopathological characteristic of a liver neoplasm in boga (*Leporinus obtusidens*) captured in the half tract from Paraná river, Argentina. There weren't found injuries in other organs. We pretend to discuss about the presence of melanomacrophages centers related to hosts defense mechanisms considered potential indicators of fish health conditions and rodlet cells connected to toxic sublethal environment conditions, like a main component of pollutant biomarkers.

Key words: hepatic neoplasm, fish, pollutants, biomarkers

Introducción

Las patologías tumorales en los peces son menos conocidas que en los mamíferos. Si bien no tiene importancia para el pez establecer el grado de malignidad ya que no hay una valoración del pronóstico individual ni posibilidad de intervención quirúrgica, existe una asociación entre contaminantes ambientales con riesgo potencial para la salud humana y la ocurrencia de neoplasias en organismos acuáticos (Roberts, 1981; Bunton y Baksi, 1988; Stegeman y Lech, 1991).

La etiología de los tumores en peces es compleja, citándose diversos agentes etiológicos que incluyen virus, toxinas químicas y biológicas, predisposición genética y estado inmunológico del pez. La predisposición genética puede estar asociada a una situación geográfica que puede coadyuvar a la acción carcinógena de una sustancia química.

Los tumores hepáticos pueden proceder del hepatocito o del epitelio de los conductos biliares. El adenoma de los ductos biliares o colangioma es un tipo de neoplasia benigna que fue reportado en diversas especies de mamíferos (CEP Agency, 1998; Parkin y cols., 1998; Al-Bader y cols., 2000). En peces las descripciones son escasas (Bunton y Baksi, 1988; Teh y cols., 1997; Hawkins y cols., 1998). Experimentalmente este tipo de neoplasia ha sido inducida por carcinógenos químicos en mamíferos (Allison y cols., 1950; Al-Bader y cols., 2000). En peces se citan como carcinógenos que inducen al desarrollo de colangiomas a la dietilnitrosamina (Stanton, 1965; Mizgirev y cols., 2004) el aminoazotolueno y fluorunilacetamida (Pliss y Khudoley, 1975) y el dibromuro de etileno (Hawkins y cols., 1998).

Este trabajo tiene como objetivo reportar la ocurrencia de un adenoma de ductos biliares en una boga (*Leporinus obtusidens*) characiforme generalista, omnívoro de tamaño grande y de elevado valor comercial. Se describen las características histopatológicas de la neoplasia analizando la presencia de algunas estructuras específicas.

Material y Métodos

El material fue obtenido de un ejemplar escogido al azar entre otros capturados con red, durante muestreos de monitoreo de la fauna íctica en el tramo medio del río Paraná, zona de clima subtropical, ubicada a 12 km de la ciudad más cercana, que cuenta con importantes establecimientos fabriles que promueven la actividad económica. El ejemplar hembra de boga *Leporinus obtusidens* tenía 60 cm de longitud total y según las características macroscópicas del desarrollo gonadal se encontraba en estado de reposo. Se tomaron muestras de bazo, hígado y riñón que fueron fijadas en formol al 10%, procesadas mediante la técnica histológica clásica de pasajes por baterías de alcoholes crecientes, aclaración en solvente orgánico e inclusión en parafina. Los cortes histológicos de 5-7 μm se colorearon con Hematoxilina y Eosina (HE), PAS (reacción Acido Periódico-Shiff) y tricrómica de Mallory.

Resultados

El tumor estaba localizado en la superficie hepática, visible macroscópicamente a través de la cápsula como masas irregulares de color blanquecino de 2 a 3 cm que sobresalían de la superficie hepática y comprometía el parénquima a diferentes profundidades. Al corte se detectó un tumor de aspecto homogéneo y consistencia firme. En los demás órganos muestreados no se detectaron alteraciones.

Microscópicamente el tejido tumoral estaba compuesto por numerosos ductos biliares dilatados (Figura 1) sin contenido biliar, recubiertos por epitelio simple cúbico alto a cilíndrico. Las células epiteliales presentaron núcleo vesiculoso en posición basal con cromatina laxa, nucleólo prominente y citoplasma pálido (Figura 2). No se observaron figuras mitóticas. En algunos ductos se observaron proyecciones papilares y pseudopapilares (Figura 3). En ocasiones las luces de los ductos presentaron secreción mucinosa homogénea ligeramente eosinófila (Figura 4). El estroma del tumor presentó abundantes fibras de colágeno y menor cantidad de fibras musculares lisas que

separaban los espacios ductales entre si y del parénquima hepático normal (Figura 5). Sin formar parte del epitelio de los ductos, se detectaron en el estroma tumoral y en el parénquima normal numerosas células rodlet (Figura 6). No se observaron focos de metástasis, células inflamatorias ni presencia de parásitos. Se encontró una cantidad moderada de centros melanomacrófagos (CMM) tanto en el hígado como en el bazo y el riñón.

Figura 1. Hígado, vista panorámica del adenoma. HE, 4X

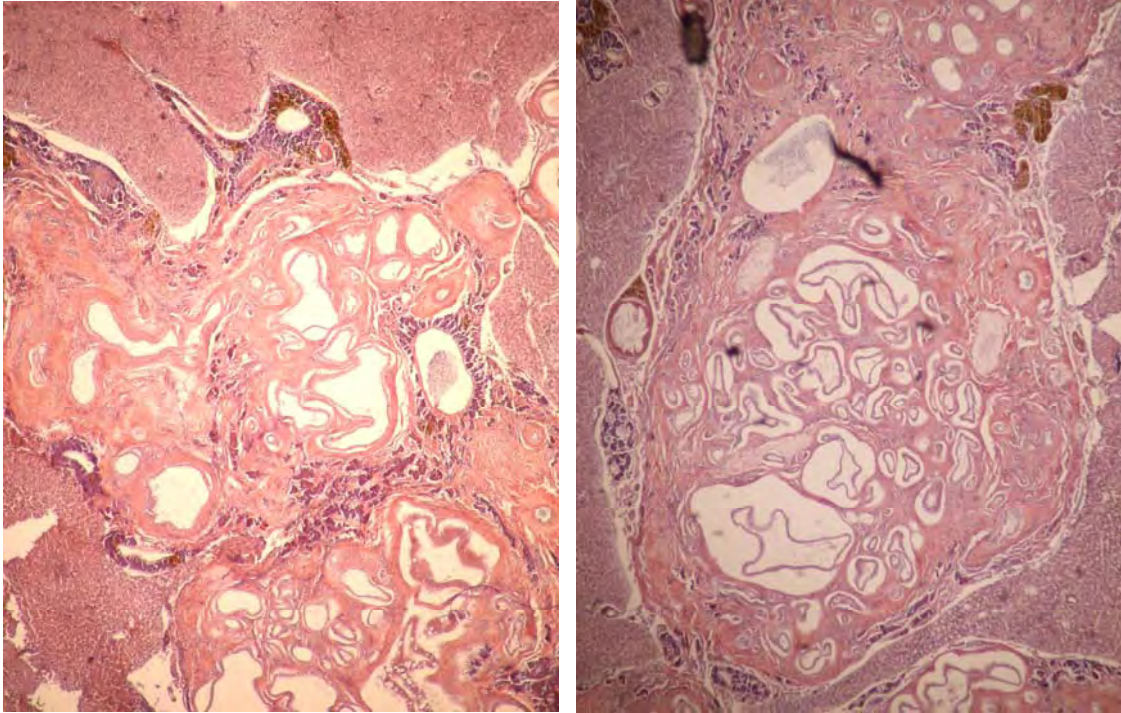


Figura 2. Epitelio de ductos neoplásicos. Células cilíndricas, núcleos grandes y vesiculosos. HE, 40X

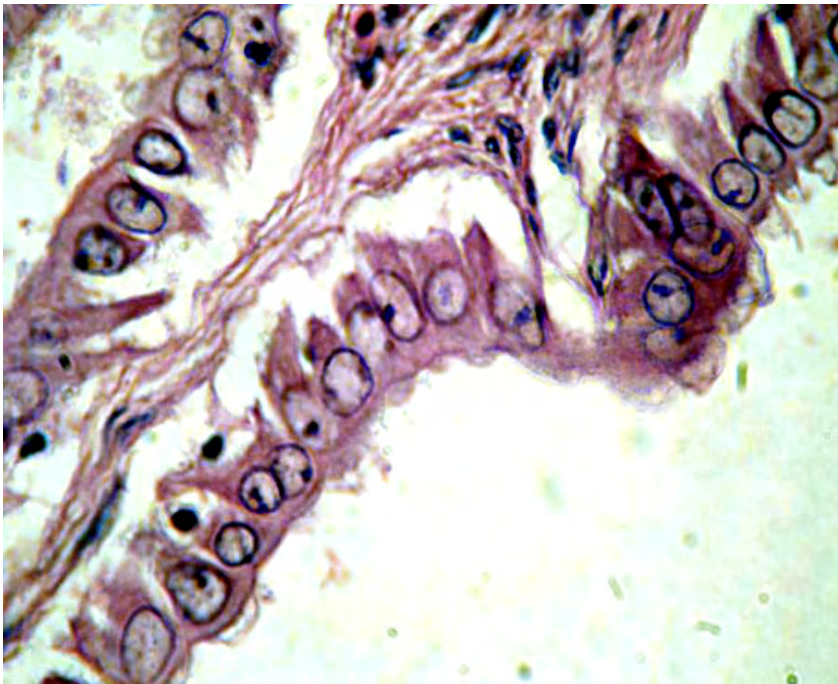


Figura 3. Proyecciones papilares del epitelio. HE, 20X

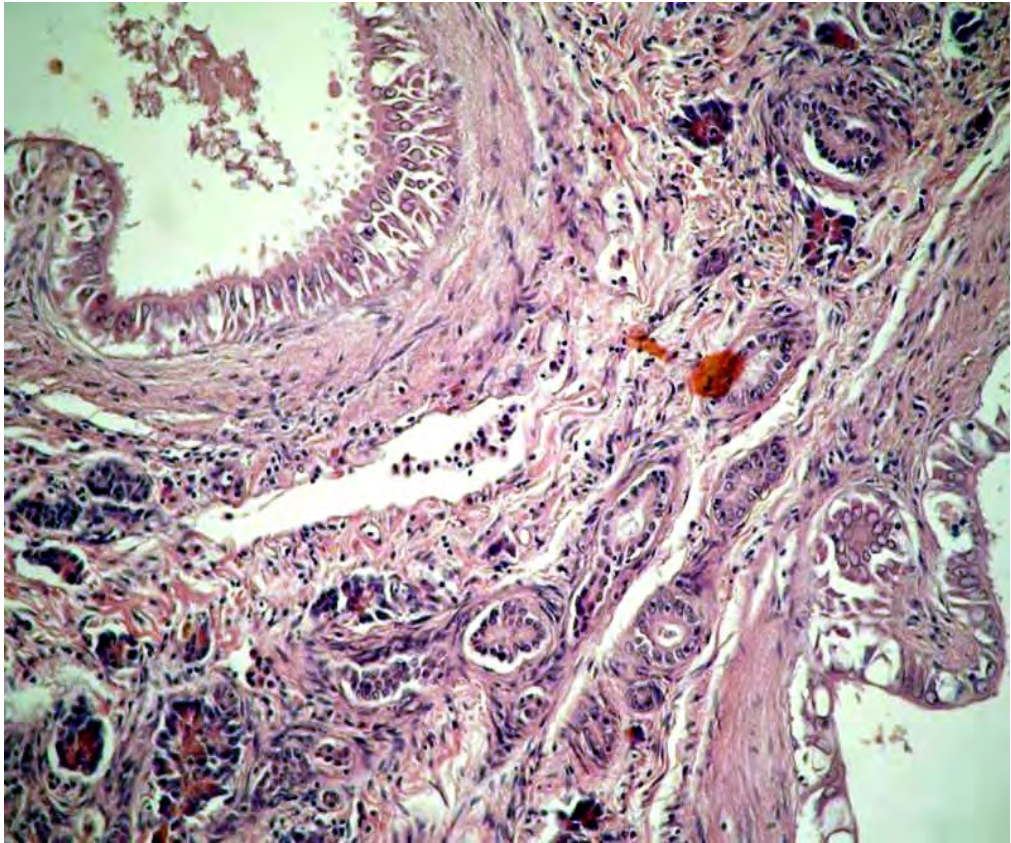


Figura 4. Contenido mucinoso en la luz de algunos túbulos. HE, 10X

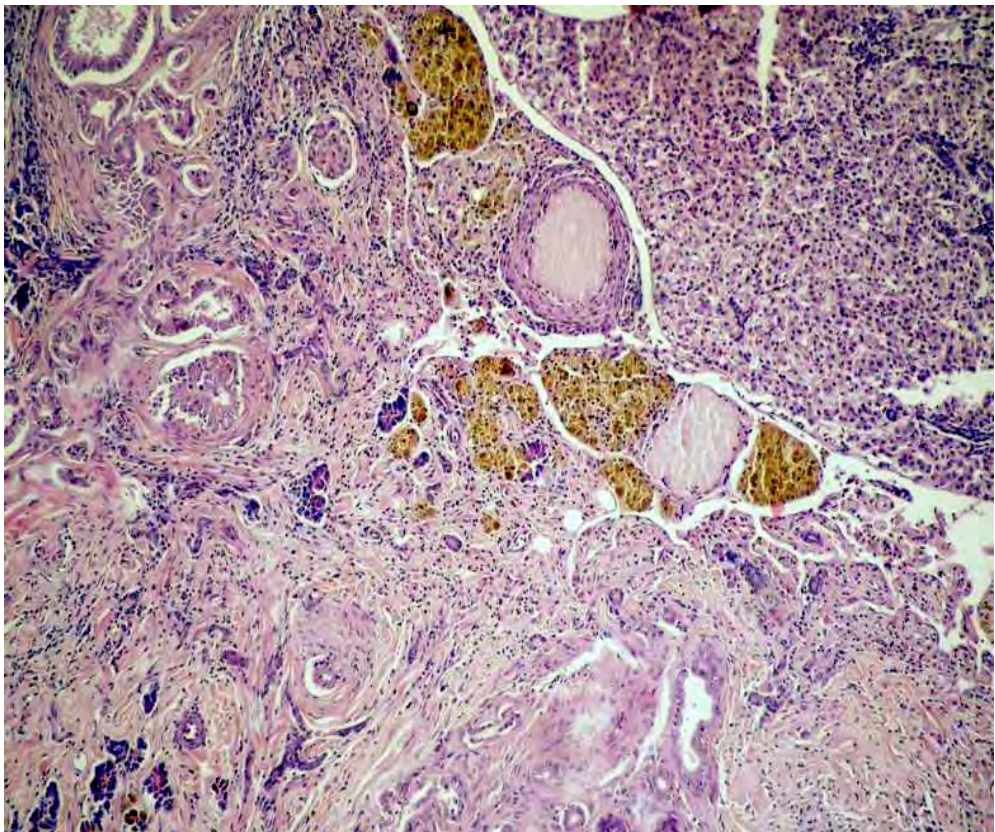
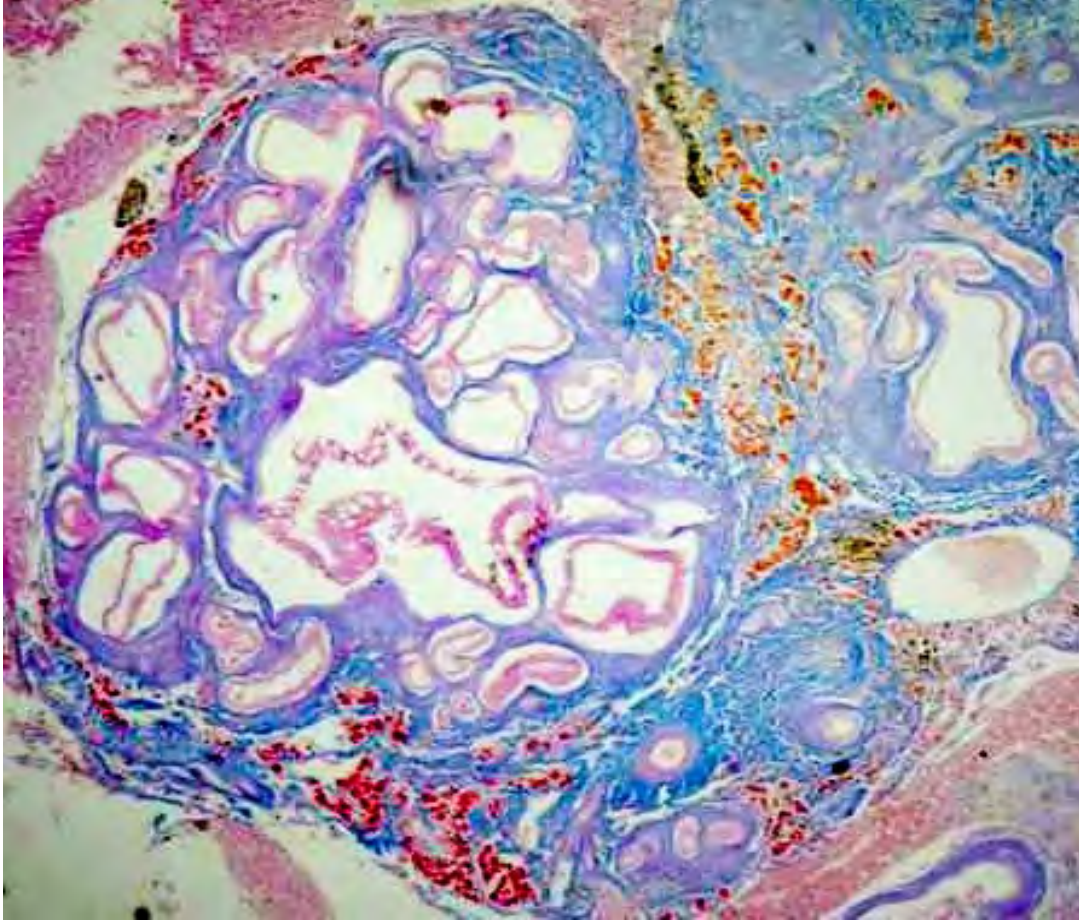
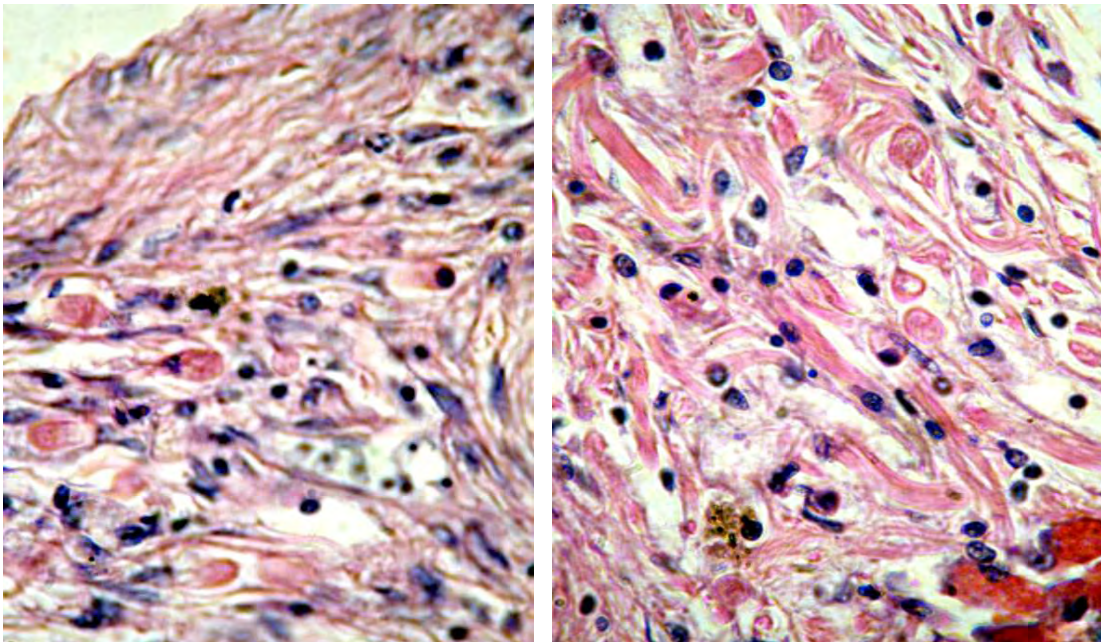


Figura 5. Estroma tumoral fibroso. Mallory, 4X**Figura 7.** Células rodlet entre fibras conjuntivas. HE, 40X

Discusión

Los peces comparten una evolución común con los mamíferos, incluido el hombre. La mayoría de las condiciones patológicas básicas que se reconocen en ellos son observadas en los peces. El reporte de neoplasias encontradas en los peces permite la ampliación de las bases de datos de neoplasias y colabora en la comprensión de la biología del tumor (Bunton y Baksi, 1988).

Los colangiomas son neoplasias benignas originadas de los ductos biliares que fueron reportadas en varias especies. Se diferencia de la enfermedad quística por la menor cantidad de tejido conectivo y la localización, que no es necesariamente en los tractos portales. Es fácilmente distinguible de focos metastáticos por su alto grado de diferenciación, ausencia de invasión vascular y de múltiples estratos celulares (POPP, 1990). La información disponible es inadecuada para determinar la incidencia promedio en las distintas especies. Stentiford y cols. (2005) mencionan que la prevalencia de tumores hepáticos en general, en poblaciones silvestres de flatfish, es ligeramente superior a 10% en tanto que Black y Baumann (1991) citan en brown bullhead frecuencias de neoplasias biliductales entre el 10 y el 37%.

La etiología de este tumor fue relacionada con parásitos digeneos en el hombre (Pliss y Khudoley, 1975; Stentiford y cols., 2005), con *Ancylostoma* en cachorros y con *Fasciola* en bovinos. Sin embargo, en el presente caso no se detectaron parásitos en los tejidos analizados.

Varios CMM estaban presentes en el parénquima hepático normal y en el estroma del tumor así como en los otros órganos analizados. Sin embargo, la cantidad no se destacó. Los CMM son estructuras vinculadas a mecanismos de defensas del huésped (Agius, 1980; Zapata, 1983; Herraz y Zapata, 1986), se los considera como indicadores potenciales del estado de salud de los peces (Wolke y cols., 1985; Haaparanta y cols., 1996). Ellos colectan pigmentos, hemosiderina, lipofucsina o melanina que reflejan procesos patológicos y de destrucción de tejidos. La interpretación del aumento o la disminución en número y tamaño de los CMM continúa siendo controvertida. Wolke y cols. (1985) evaluaron los CMM de *Pseudopleuronectes americanus* recolectados de ambientes limpios y contaminados y observaron significativas diferencias entre las dos áreas. Al asumir que son repositorios de estructuras dañadas, se espera que el número aumente en condiciones de estrés. Sin embargo, algunos trabajos ya señalan que el número de CMM no solo no aumenta en algunas situaciones de estrés, sino que puede inclusive disminuir por estar afectado el sistema inmune y más específicamente la fagocitosis (Payne y Fancey, 1989).

Otro elemento de análisis constituye la presencia de células rodlet. Estas células no estaban situadas entre las células epiteliales de los ductos ni próximas a la luz, como están descritas en colangiomas de *Morone americana* (Bunton y Baksi, 1988) pero si fueron numerosas en el estroma del tumor. La naturaleza y función de las células rodlet esta sujeta a varias interpretaciones. Anteriormente fueron consideradas como protozoos, elementos sensitivos o estructuras glandulares. Estas células fueron encontradas en varios órganos de numerosas especies de peces y con cierta frecuencia son citadas en el epitelio de los ductos biliares (Rocha y cols., 1994) pero como fueron observadas también en animales sanos en epitelios sin inflamación, su rol en la génesis del tumor permanece oscuro. Reite (2005) vincula a las células rodlet con mecanismos de defensa atraídos particularmente cuando existen helmintos en los tejidos, sugiriendo que se comportan como fuerzas móviles de defensa a diferencia de las células granulares eosinófilas que constituyen la línea estática de defensa.

Las células rodlet fueron hasta ahora claramente demostradas en algunas familias de teleósteos con distribución característica, existiendo una estrecha relación con helmintos y otras noxas. Varios estudios sugieren que estas son células Inducidas por condiciones ambientales tóxicas subletales y otros tipos de estrés (Smith y cols., 1995). Según Manera y Dezfuli (2004) el primero en reportar la relación entre células rodlet y sustancias químicas fue Vickers (1962). Más recientemente Courtney y Couch (1988) encontraron una relación directa de estas células con el carcinógeno dietilnitrosamina en peces expuestos. Manera y Dezfuli (2004) proponen la utilización de las células rodlet como biomarcadores potenciales reportando incremento de estas células en peces expuestos a sustancias químicas como metales y herbicidas.

Finalmente, se considera la presencia de sustancias tóxicas en el agua. En América Latina, la falta de legislación ambiental y el bajo costo de la mano de obra propiciaron la instalación de industrias, que afectan negativamente la calidad ambiental de la región. En el recorrido del río Paraná existe un importante desarrollo industrial instalado, conformado por curtiembres que emplean numerosos productos, entre ellos el cromo y benceno, madereras que utilizan solventes tóxicos e ingenios azucareros que operan con ácido sulfhídrico, entre otros. Numerosos productos químicos requieren de la activación metabólica antes de que puedan inducir la neoplasia. La relación entre la exposición a un carcinógeno, la proliferación celular y la carcinogénesis aun es pobremente entendida en los peces. Medakas japoneses expuestos a dietilnitrosamina por 48 h tuvieron incremento dosis dependiente de quistes hepáticos y espongiosis celular con otras lesiones degenerativas (Hawkins, 1998). Inflamaciones, parásitos, deficiencias de glucógeno y CMM fueron detectados por Teh y cols. (1997) en peces muestreados tanto en ambientes contaminados como en los que actuaron de controles. Sin embargo, colangiomas solo se encontraron en peces provenientes de ambientes contaminados. Durante el proceso de detoxificación y excreción, las sustancias se convierten en metabolitos polares por equipos enzimáticos que actúan recíprocamente con componentes celulares para comenzar el proceso neoplásico y siendo el hígado la fuente primaria de las enzimas sistema oxidasa de función mixta (Fabacher y Baumann 1985; Stegeman y Lech, 1991) se convierte en el sitio frecuente de cáncer en los peces expuestos. Aparentemente el metabolismo de carcinógenos en el pez es notablemente similar al de mamíferos, incluso el hombre.

Conclusiones

El uso de biomarcadores histológicos en la injuria tóxica, en la disfunción orgánica y en la carcinogénesis se establece como poderosa herramienta para poder detectar las características biológicas de los puntos críticos de exposición a tóxicos y carcinógenos en ambientes naturales. El colangioma, a diferencia de los CMM y las células rodlet, es una de las lesiones que puede actuar como indicador más sensible y confiable no solo para evaluar la salud de la población de peces y la situación ambiental, sino fundamentalmente la contaminación del agua con productos carcinogénicos.

Bibliografía

1. Agius, C. (1980). Phylogenetic development of melanomacrophage centres in fish. *Journal of Zoology*. (London), 191: 111-132
2. Al-Bader, A., T. Mathew, H. Abul, H. Al-Sayer, P. Singal y H. Dashti (2000). Cholangiocarcinoma and liver cirrosis in relation to changes due to thioacetamide. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 208(1-2):1-9
3. Allison, J., A. Wase, J. Leathem y W. Wainio (1950). Some effects of 2 acetylaminofluorene on the dog. *Cancers Research*,; 10: 266-271

4. Black, J. y P. Baumann (1991). Carcinogens and cancers in freshwater fishes. *Environmental Health Perspectives*, 90: 27-33
5. Bunton, T. y S. Baksi. (1988). Cholangioma in white perch (*Morone americana*) from the Chesapeake Bay. *Journal of Wildlife Diseases*, 24(1):137-141
6. California Environmental Protection Agency (1998). *Evidence on The Carcinogenicity of 2-Aminofluorene Draft*. Reproductive and Cancer Hazard Assessment Section. Office of Environmental Health Hazard Assessment
7. Courtney, L. y J. Couch (1988). Rodlet cell response : proliferation and development in carcinogen-exposed fish tissues. *Aquatic Toxicology*, 11:429
8. Fabacher, D. y P. Baumann (1985). Enlarged livers and hepatic microsomal mixed function oxidase components in tumor-bearing bullheads from a chemically contaminated river. *Environmental and Toxicological Chemistry*, 4:703-710
9. Haaparanta, A., E. Trellervo Valtonen, R. Hoffmann y J. Holmes (1996). Do macrophage centres in freshwater fishes reflect the differences in water quality. *Aquatic Toxicology*, 34(3): 253-272
10. Hawkins, W., W. Walker, M. James, C. Manning, D. Barnes, C. Heard y R. Overstreet (1998). Carcinogenic effects of 1,2-dibromoethane (ethylene dibromide; EDB) in Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 399 (2):221-232
11. Herraz, M. y A. Zapata (1986). Structure and function of the melano-macrophage centers of the goldfish *Carassius auratus*. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 12: 117-126
12. Manera, M. y B. Dezfuli (2004). Rodlet cells in teleosts: a new insight into their nature and functions. *Journal of Fish Biology*, 65: 597-619
13. Mizgireuv, I., I. Majorova, V. Gorodinskaya, V. Khudoley y, S. Revskoy (2004). Carcinogenic effect of n-nitrosodimethylamine on diploid and triploid zebrafish (*Danio rerio*). *Toxicologic Pathology*, 32:514-518
14. Parkin, D., H. Ohshima, P. Srivatanakul y V. Vatanasapt (1998). Cholangiocarcinoma: epidemiology, mechanisms of carcinogenesis and prevention. *Carcinogenesis*, 19: 485-491
15. Payne, J.F. y L.F. Fancey (1989). Effect of polycyclic aromatic hydrocarbons on immune responses in fish: change in melanomacrophage centers in flounder (*Pseudopleuronectes americanus*) exposed to hydrocarbon-contaminated sediments. *Marine Environmental Research*, 28:431-435
16. Pliss, G. y V. Khudoley (1975). Tumor induction by carcinogenic agents in aquarium fish. *Journal of The National Cancer Institute*, 55: 129-136
17. Popp, J. (1990). Tumors of the livers, gall bladder and páncreas. En: *Tumors in domestic animals. (3th edition)*. Ed. Jack Moulton. 436-457
18. Reite, O.B. (2005). The rodlet cells of teleostean fish: their potential role in host defence in relation to the role of mast cells/eosinophilic granule cells. *Fish and Shellfish Immunology*, 19(3):253-267
19. Roberts, R. (1981). *Patología de los Peces*. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid.; 355 pp
20. Rocha, E., R. Monteiro y C. Pereira (1994). Presence of rodlet cells in the intrahepatic biliary ducts of the brown trout, *Salmo trutta fario* Linnaeus, 1758 (Teleostei, Salmonidae). *Canadian Journal of Zoology*, 72: 1683-1687
21. Smith, S., T. Caceci y J. Robertson (1995). Occurrence of rodlet cells and associated lesions in the vascular system of freshwater angelfish. *Journal of Aquatic Animal Health*, 7:63-69
22. Stanton, M. (1965). Diethylnitrosamine-induced hepatic degeneration and neoplasia in jthe aquarium fish, *Brachydanio rerio*. *Journal of The National Cancer Institute*, 34:117-130.
23. Stegeman, J. y J. Lech (1991). Cytochrome P-450 monooxygenase systems in aquatic species: carcinogen metabolism and biomarkers for carcinogen and pollutant exposure. *Environmental Health Perspective*, 90:101-109
24. Stentiford, G., M. Viant, D. Ward, P. Johnson, A. Martin, W. Wenbin, H. Cooper, B. Lyons y S. Feist (2005). Livers Tumors in wild flatfish: a histopathological, proteomic and metabolomic study. *Journal of Integrative Biology*, 9(3): 281-299
25. Teh, S., S.M. Adams y D.E. Hinton (1997). Histopathologic biomarkers in feral freshwater fish populations exposed to different types of contaminant stress. *Aquatic Toxicology*, 37: 51-70
26. Wolke, R., R. Murchelano, C. Dickstein y C. George (1985). Preliminary evaluation of the use of macrophage aggregates (MA) as fish health monitors. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 35: 222-227
27. Zapata, A. (1983). Phylogeny of the fish immune system. *Bulletin of Institute Pasteur*, 81: 175-186