

LE NEOPLASIE NEI TELEOSTEI

BIAVATI S., MANERA M.

Istituto di Patologia Generale e Anatomia Patologica Veterinaria, Bologna

RIASSUNTO

Pur vantando citazioni bibliografiche a partire dalla fine dell'800, un razionale, sistematico e sperimentale studio delle neoplasie dei teleostei è una recente acquisizione. Sebbene le neoplasie dei teleostei presentino aspetti che sembrano essere caratteristica comune delle neoplasie dei vertebrati (progressione secondo una modalità multi-steps) le peculiarità istologiche e fisiologiche dei teleostei non permettono una semplicistica proiezione dei dati sulle neoplasie ottenute dai mammiferi. La classificazione dei tumori dei mammiferi basata su riscontri morfologici trova riscontro nei teleostei; non lo trovano le classificazioni basate su valutazioni clinico-prognostiche o su particolari *marker*. Lo studio delle neoplasie dei teleostei può essere d'ausilio nella valutazione del degrado degli ecosistemi acquatici e nella ricerca dei meccanismi patogenetici della patologia neoplastica.

SUMMARY

Neoplasms in teleosts were described since the end of the nineteenth century but only recently they were rationally, systematically, experimentally studied. The multi-steps neoplastic progression mode is demonstrated in some fishes, in any case fishes neoplasms display other features that prevent the simple extension of mammalian neoplasm data on teleosts. Only the morphological mammalian neoplasms classification can be used to classify teleosts neoplasm. Fishes neoplasms could be used as *biomarkers* or as experimental model.

Diverse sono le forme neoplastiche dei teleostei riportate in letteratura e sovrapponibili a quelle degli altri vertebrati sono le cause carcinogenetiche. In riferimento agli elasmobranchi (pesci cartilaginei) viene ancora oggi riportato da fonti giornalistiche a caccia di *scoop*, e di sicuro lontane dalla

patologia comparata, che siano esenti da forme neoplastiche. Stoskopf (1992) ritiene che questo fraintendimento non sia dovuto all'assenza di neoplasie descritte in letteratura per questi organismi che risalgono ai primi del '900 - bensì ad una alquanto fuorviante interpretazione di alcuni dati sul tessuto che caratterizza questi animali, il tessuto cartilagineo. Accadde, infatti, che nel corso di studi volti a valutare l'impiego della cartilagine degli elasmobranchi in sostituzione di quella di vitelli in accrescimento, venissero evidenziati fattori inibenti la vascolarizzazione all'interno della stessa cartilagine (Lee e Langer, 1983). Un analogo fattore, sebbene a titoli inferiori, è stato anche isolato dalla cartilagine bovina (Lee e Langer, 1983). I ricercatori in considerazione della rarità dei casi di neoplasie hanno voluto relazionarlo a questo fattore che renderebbe questi animali "resistenti" alla patologia neoplastica, colpendola in un punto critico, quello della vascolarizzazione. Tuttavia, oltre al fatto che sono stati descritti anche tumori maligni, la scarsità di casi di neoplasie descritte in letteratura è da imputarsi a scarso e superficiale interesse scientifico nei confronti degli elasmobranchi, se paragonato a quello prestato ai teleostei di interesse commerciale e non tanto ad una scarsa incidenza in questi organismi (Stoskopf, 1992).

Fin ad ora sono stati studiati casi di tumori, comparsi con una certa frequenza, in pesci commestibili, di acquario oppure in soggetti presenti in acque interne ad alto rischio di inquinamento per la presenza di industrie ma le descrizioni istopatologiche sono di norma carenti o condotte senza criterio anatomopatologico, anche se esistono meritevoli eccezioni, purtroppo non sufficientemente divulgate. Nei teleostei sono state anche condotte prove sperimentali di carcinogenesi, volte a saggiare il potenziale carcinogenetico di varie sostanze sui pesci e la modalità di crescita neoplastica (Ashley, 1969, Hayes e Ferguson, 1989). Il lavoro sperimentale serve in quanto i pesci viventi in acque inquinate possono essere dei validi indicatori biologici pronti a segnalare la presenza di agenti ambientali carcinogenetici. Si potrebbe avere una precoce indicazione atta ad impedire il rischio per altri vertebrati, uomo compreso, allorchè si riuscisse a correlare il danno neoplastico con la concentrazione della sostanza carcinogenetica, utilizzando, in tal modo, le neoplasie dei teleostei come *biomarkers*. La patologia comparata insegna, inoltre, come dati desunti da una specie possano essere proiettati in un'altra, senza scendere in semplicistiche trasposizioni che non tengano conto delle diverse biologie degli organismi comparati. Il fenomeno neoplastico è un interessante fenomeno biologico cellulare che presenta aspetti comuni a specie filogeneticamente molto distanti tra loro.

PROGRESSIONE NEOPLASTICA

La patogenesi neoplastica multi-steps è stata dimostrata in molti vertebrati terrestri ed anche, sebbene in minor misura, in alcuni teleostei. Le neoplasie posseggono una propria storia naturale, conosciuta oppure no, la quale consta di alcuni eventi in successione indispensabili per l'insorgenza della neoplasia stessa:

Iniziazione, Promozione (preceduta o meno da un periodo più o meno lungo di latenza), Conversione, Progressione (Hayes e Ferguson, 1989).

Nello stadio di iniziazione i carcinogeni di tipo chimico, fisico, biologico agiscono sulla cellula normale nel senso di determinare lesioni permanenti al DNA consistenti in mutazioni geniche od attivazione degli oncogeni. I virus a DNA o RNA - copia di DNA creata dalla trascrittasi inversa - possono integrarsi col patrimonio genetico della cellula ospite alterandone in varia misura le sue potenzialità geniche che vengono trasmesse alla progenie all'atto della mitosi. Sono diverse le neoplasie dei vertebrati sicuramente indotte da virus (Si veda oltre).

Può seguire uno stadio di latenza durante il quale l'alterazione al patrimonio genetico, qualunque essa sia, rimane quiescente, non esprimendosi fino a che non subentri uno stimolo che promuova la crescita e moltiplicazione cellulare, dando modo alla mutazione od all'oncogene di esprimersi.

Nello stadio della promozione le cellule iniziate subiscono uno stimolo alla crescita ed alla moltiplicazione ad opera di sostanze coadiuvanti, che inducono una sorta di selezione preferenziale alla proliferazione nei confronti delle cellule neoplastiche. Nel corso della fase di promozione è ancora possibile la regressione del fenomeno in atto con scomparsa o ridifferenziazione delle cellule neoplastiche

L'espressione della mutazione genica o dell'oncogene, con la vera e propria trasformazione in cellula neoplastica, atipica e non più soggetta ai segnali di controllo dell'organismo si ha nel corso della fase di conversione. Si assiste ad una crescita espansiva. In questa fase la "potenzialità" neoplastica diviene attuale, viene espressa.

Nello stadio della progressione si assiste a tutta una serie di epifenomeni conseguenti alla trasformazione neoplastica ed alla mancanza di controllo della cellula neoplastica, rappresentati da alterazioni cromosomiche e marcate atipie morfologiche, in passato fin troppo sopravvalutate. Possono subentrare ulteriori mutazioni geniche che danno origine a cloni cellulari sempre più invasivi, maligni ed è in questo con-

testo che l'organismo¹ o la terapia possono favorire, loro malgrado, la progressione neoplastica, mettendo in atto una vera e propria pressione selettiva sulle cellule neoplastiche.

Le neoplasie maligne dei teleostei manifestano la loro malignità per crescita espansiva, infiltrativa e raramente metastatizzano. Il perchè non si assista, se non di rado, al fenomeno della metastasi non è noto e potrebbe dipendere da carenza di fattori enzimatici e di membrana o da una differente sorveglianza immunitaria nei teleostei.

CLASSIFICAZIONE DEI TUMORI NEI TELEOSTEI

Le classificazioni note in patologia veterinaria e umana, peraltro in continuo aggiornamento alla luce delle nuove acquisizioni, sono troppo complesse per estenderle a comprendere i tumori dei teleostei perchè considerano le lesioni neoplastiche in proiezione prognostica e terapeutica valutando, quindi, il *grading* e lo *staging* tumorale. E' noto, infatti, di come spesso la malignità clinica non corrisponda alla malignità istopatologica.

Nei pesci lo studio dei tumori è interessante soprattutto per cercare di chiarire il meccanismo patogenetico e le eventuali interazioni esercitate da agenti inducenti, coadiuvanti, promuoventi di ogni tipo sulla storia naturale del tumore. Lo studio assume quindi importanza nella carcinogenesi sperimentale con l'intento di creare modelli noti che potrebbero essere impiegati nella prevenzione (monitoraggio ambientale, acquacoltura, difesa del territorio) e potrebbero rivelare sostanze cancerogene nocive per l'uomo e gli animali domestici.

La conoscenza del *grading* e *staging* hanno solo fini prognostici per indicare i protocolli terapeutici e, quindi, sono di massima utilità per l'uomo e gli animali domestici. Per dette ragioni, in accordo con Mawdesley-Thomas (1975), proponiamo di continuare ad adottare per i tumori dei Teleostei la classificazione proposta da Willis (1967). Hayes e Ferguson (1989) rimandano, invece, al Moulton (1978):

1) Di norma la cellula neoplastica, allorchè esprime i caratteri fenotipici della neoplasia, cioè esprime l'oncogene od il segmento mutato di DNA, perde o può perdere i caratteri di *self* e viene riconosciuta estranea dall'organismo, comportandosi metabolicamente ed immunologicamente come un vero e proprio parassita. In tal senso la cellula neoplastica si trova in un ambiente, rappresentato dall'organismo ospite, a lei ostile e, pertanto, sottoposta a continue pressioni selettive che possono favorire la selezione di cloni sempre più adattativi, invasivi. In proposito è interessante notare come la terapia antineoplastica con farmaci che "accecano" i recettori per gli estrogeni nelle forme adenocarcinomatose mammarie umane possa, in alcuni casi, sottoponendo la popolazione cellulare neoplastica ad una vera e propria pressione selettiva, favorire la comparsa di cloni neoplastici estrogeno-indipendenti.

Tumori del tessuto epiteliale	Papillomi, papillomatosi, adenomi, carcinomi.
Tumore del tessuto mesenchimale non emopoietico	Fibromi, lipomi, condromi, osteomi, angiomi, rabdomiomi, leiomiomi, mixomi, fibromixomi e vari tipi di sarcomi (ad es.: fibrosarcomi).
Tumori del tessuto emopoietico	Linfomi, linfosarcomi ed altri tumori del tessuto emopoietico.
Tumori del tessuto nervoso	Neurilemmomi, ganglioneuromi, schwannomi ed altri tumori derivanti dal sistema nervoso centrale o periferico
Tumori particolari	Melanomi, eritroforoma, xantoforoma, guanoforoma da cellule derivanti dalle creste neurali. Teratomi ed altri tumori embrionali derivanti da germi embrionari.

(Modificata da Willis, 1967 e da Mawdesley-Thomas, 1975)

TUMORI DEI TELESOTEI SPERIMENTALMENTE INDOTTI (Da Ashley L.M., 1969)

Probabilmente l'inizio della carcinogenesi sperimentale nei teleostei risale agli storici esperimenti di Marine e Lenhart (1910) sugli effetti della carenza di iodio sulla tiroide dei pesci che cominciarono a focalizzare l'attenzione dei ricercatori sulla necessità di considerare attentamente le differenze anatomiche tra vertebrati al fine di non incorrere in errori interpretativi proiettando semplicisticamente sui pesci i dati dedotti dai mammiferi. Weisseberg (1939-1945) studiando la linfocisti ipotizzò per primo una eziologia virale per questa particolare patologia neoplastica dei teleostei. Weisseberg scoprì che le cellule linfocistiche erano in realtà dei fibroblasti ipertrofici. E' ora noto che il virus agente eziologico della linfocisti induce i fibroblasti ad ingrandirsi, impedendone nel contempo la mitosi. Si tratta sempre e comunque di un difettoso controllo della crescita cellulare, per ipertrofia, nello specifico caso, piuttosto che per iperplasia, come nelle co-

muni neoplasie Lo stesso autore (1911) scoprì l'interessante fenomeno degli 'xenomi' o complessi xeno-parassitari studiando larve di pesci sperimentalmente infettate ed uccise ad intervalli periodici. Un microsporidio (*Glugea* spp.) parassita intracellulare induce le cellule mesenchimali da esso infettate all'ipertrofia ed alla divisione nucleare amitotica. Anche in questo caso valgono le medesime considerazioni fatte per la linfocisti. Notevole interesse destò la scoperta di neoplasie geneticamente indotte e determinate dai geni che controllano la pigmentazione allorchè Kosswig (192g), Reed e Gordon (1931) e Nigrelli et al. (1951) descrissero un tumore pigmentato negli ibridi ottenuti dall'incrocio di *Xiphophorus helleri* X *Platypoecilus maculatus*. Recentemente è stato scoperto un oncogene virale (virogene) in pesci del genere *Xiphophorus*, una sorta di equivalente ittico del virogene del sarcoma aviario ma si ignora il loro rapporto con la neoplasia. Li e Baldwin (1944) indussero involontariamente tumori testicolari (sarcomi) in *Xiphophorus helleri* iniettando "retroperitonealmente" ormoni lipo-solubili veicolati da olio di sesamo. Epizozie mondiali di carcinomi epatici in trote d'allevamento diedero un notevole impulso alla carcinogenesi sperimentale nei pesci. Negli U.S.A. furono saggiate tredici diete carcinogenetiche per topi da laboratorio ed undici lo risultarono anche per le trote (Dimetilnitrosamina, acetilaminofluorene, ecc...). Si scoprì in seguito che la causa dell'epizozia era da attribuirsi all'aflatossina - in particolare la B1 - prodotta da *Aspergillus flavus*, muffa contaminante il mangime. La trota è tra gli animali più sensibili a questa tossina prestandosi bene come *biomarker*. Furono proprio le ricerche sulla cancerogenicità per la trota elemento di impulso allo studio della cancerogenicità da micotossine in altre specie, compresa quella umana. Da uova di diverse specie ittiche sperimentalmente trattate con 13-amino-propionitrile ad opera di Levy (1962) nacquero larve con un caratteristico tumore della notocorda (eccordoma).

Questo breve *escursus* storico è stato inserito per sottolineare l'importanza dell'impiego dei teleostei come modelli di ricerca e di come diverse acquisizioni sulla patologia dei teleostei si siano riflessi, in seguito, in altre specie animali, uomo compreso.

CARATTERIZZAZIONE ISTOGENETICA E FENOTIPICA.

Gli studi di morfopatologia e i tests per la specificità dei differenti caratteri istologici delle cellule, aiutano a identificare le derivazioni embriologiche degli elementi neoplastici anaplastici ed in modo particolare in organi sede di metastasi. La ricerca però non è attendibile se condotta nei tumori in stadi

di marcata anaplasia perchè durante la perdita della differenziazione le cellule possono aver perduto i propri caratteri - tutte quelle strutture proteiche, glicoproteiche, citoplasmatiche o di membrana caratterizzabili istochimicamente ed immunoistochimicamente per ogni tipo cellulare - oppure possono esprimere nuove proteine o glicoproteine non espresse nelle cellule da cui proviene il tumore (alfa-fetoproteina e antigene carcinoembrionario nei mammiferi). C'è da dire che ancora pionieristica è la ricerca di *marker*² tumorale per i teleostei e rappresenta, in gran parte, una trasposizione dei dati acquisiti in patologia umana e veterinaria. Nei teleostei sono stati utilizzati Ab contro i principali filamenti intermedi (citocheratine, desmine) e l'antigene nucleare di proliferazione cellulare (PCNA) (Manera e Biavati, 1994).

NEOPLASIE AD EZIOLOGIA VIRALE DEI TELEOSTEI

L'interesse per le neoplasie ad eziologia virale è di notevole interesse, soprattutto per i risvolti medico-epidemiologici umani. Tra gli animali vi sono diversi esempi di neoplasie indotte da virus a partire dai mammiferi (linfoma di Burkitt, leucosi bovina, felina, ecc...), passando agli uccelli (leucosi aviare, malattia di Marek), ai rettili (sarcoma della vipera di Russel), agli anfibi (adenocarcinoma renale della rana o tumore di Lucké), fino ai pesci.

Queste sono le neoplasie (per completezza vengono riportate anche le iperplasie) dei teleostei indotte da virus, riportate con a fianco l'agente eziologico e la/le specie colpite:

2) Col termine di *marker* si intende qualsiasi struttura cellulare, di solito con carattere di Ag, che possa essere usata per marcare, contraddistinguere, in maniera più o meno certa, un tipo cellulare particolare che esprima quel dato carattere normalmente (ad es. i filamenti intermedi per identificare: cellule epiteliali, muscolari, fibroblasti, cellule endoteliali, gliali, ecc...) od in condizioni patologiche (ad es. l'alfa-fetoproteina, l'antigene carcinoembrionario CEA, ecc...). Si parla di marcatori tumorali riferendosi a quei caratteri cellulari, normali od anormali che possano essere presi come riferimento per evidenziare un tumore (ad es. ricerca del CEA nel plasma in medicina umana), classificare il tumore per derivazione cellulare, e valutarne il grado di malignità (PCNA, KI-67).

FORMA NEOPLASTICA

AGENTE EZIOLOGICO

OSPITI

iperplasia epidermica nel luccio
iperplasia epidermica
carcinoma squamoso
linfocisti
iperplasia epidermica

esocid herpesvirus 1
herpesvirus vitreum
rainbow smelt herpesvirus
lymphocystic virus
esox epidermal hyperplasia re-
trovirus

Esox lucius
Stizostedion vitreum vitreum
Osmerus mordax
almeno 125 specie
Esox lucius, *E. masquinongy*

linfosarcoma
sarcoma
sarcoma dermico

esox lymphosarcoma retrovirus
esox sarcoma retrovirus
walleye dermal sarcoma retro-
virus

Esox lucius, *E. masquinongy*
E. lucius
Osmerus mordax

iperplasia epidermica

walleye discrete epidermal hy-
perplasia retrovirus
white sucker epidermal papil-
loma retrovirus

Osmerus mordax

papillomi epidermici

Oncorhynchus masou virus e
Yaname tumor virus

Catostomus commersoni

papilloma epiteliale

lake trout herpesvirus
atlantic salmon papilloma re-
trovirus

Oncorhynchus mykiss, *Salve-
linw namaycush*, *Oncorhynchus*
keta
Salvelinus namaycush
Salmo salar

iperplasia epidermica
papilloma epidermico

atlantic salmon fibrosarcoma
retrovirus
herpesvirus cyprinii

Salmo salar

leiomiosarcoma del salmone
atlantico
vaiole della carpa

Cyprinus carpio, *Tinca tinca*,
Barbus barbus, *Abramis*
brama, *Stizostedion lucioperca*,
Leuciscus idus
Xiphophorus spp.

melanoma

Xiphophorus spp. hybrid mela-
noma papovavirus

Xiphophorus spp.

neuroblastoma

Xiphophorus spp. hybrid neu-
roblastoma retroviruses
atlantic cod adenovirus

Xiphophorus spp.

iperplasia epidermica del mer-
luzzo atlantico

Gadus morhua

iperplasia epidermica della li-
manda
"smelt papillomatosis"
papilloma

dab adenovirus
smelt herpesvirus
gillthead sea bream papilloma-
associated virus

Limanda limanda

papilloma epidermico

pleuronectid epidermal papil-
loma-associated virus

"smelt"
Sparus aurata

papilloma epidermico

stomatopapilloma-associated
viruses: eel virus (Berlin), EV-
1, EV-2, unnamed syncytium-
forming virus

diverse specie di pleuronettidi

Anguilla anguilla

(Da A.A. V.V. in Stoskopf, 1992)

BIBLIOGRAFIA:

- 1) Ashley L.M. (1969). *Experimental fish neoplasia*. In In fish in research (edito da Neuhaus O.W. and Halver J.E.), pp. 23-3. London. Academic Press.
- 2) Biavati S.T e Mancini L. (1967). *Un caso di fibroma in sardina *Pilchardus sardina**. Nuova Vet., 43, 11-14.
- 3) Budd J., Schroeder J.D. e Dukes K.D. (1975). *Tumors of the yellow perch*. In Pathology of Fishes (edito da Ribelin W.E. e Migaki G.), pp. 895-906. Madison U.S.A.. The University of Wisconsin Press.
- 4) Dawe C.J. e Harshbarger (1975). *Neoplasm in feral fishes: their significance to cancer research*. In Pathology of Fishes (edito da Ribelin W.E. e Migaki G.), pp. 871-894. Madison U.S.A.. The University of Wisconsin Press.
- 5) Hayes M.A. e Ferguson H.W. (1989). *Neoplasia in fish*. In *Systemic pathology of Fish. A text and Atlas of comparative tissue responses in diseases of Teleosts* (edito da Ferguson H.W.), pp. 230-247. Ames U.S.A.. Iowa State University Press.
- 6) Kosswig C. (1929). Citato da Ashley L.M. (1969).
- 7) Lee A. e Langer R. (1983). Citato da Stoskopf M.K. (1992).
- 8) Levy B.M. (1962). Citato da Ashley L.M. (1969).
- 9) Li M.H. e Haldwin F.M. (1944). Citato da Ashley L.M. (1969).
- 10) Manera M. e Biavati S. (1994). *An immuno-histochemical technique used to demonstrate the transition form of a squamous cell carcinoma in a mirror carp, *Cyprinus carpio* L.* J. Fish Dis., 17: 93-96.
- 11) Marine D. e Lenhart C.H. (1910). Citato da Ashley L.M. (1969).
- 12) Mawdesley-Thomas L.E. (1975). *Neoplasia in fish*. In Pathology of Fishes (edito da Ribelin W.E. e Migaki G.), pp. 805-870. Madison U.S.A.. The University of Wisconsin Press
- 13) Moulton J.E. ed. (1978). *Tumors in domestic animals*. Berkeley. University of California Press.
- 14) Reed H.D. e Gordon M. (1931). Citato da Ashley L.M. (1969).
- 15) Roberts R.J. (1989). *Fish pathology*. London. Baillere Tindall.
- 16) Sindermann C.J. (1990). *Neoplastic diseases*. In *principal diseases of marine fish and shellfish*. Vol 1, parte III, pp. 173-199. San Diego, California. Academic Press.
- 17) Sobel H.J., Marquet E., Kallman K.D. e Corley G.J. (1975). *Melanomas in *Platy/Swordtail Hybrids**. In Pathology of Fishes (edito da Ribelin W.E. e Migaki G.), pp. 805-870. Madison U.S.A.. The University of Wisconsin Press.
- 18) Scarpelli D.G. (1969). *Comparative aspects of Neoplasia in fish and other laboratory animals*. In In fish in research (edito da Neuhaus O.W. and Halver J.E.), pp. 45-85. London. Academic Press.
- 19) Sontegard R. (1975). *Lymphosarcoma in *Muskellunge (Esox masquinongy)**. In Pathology of Fishes (edito da Ribelin W.E. e Migaki G.), pp. 907-924. Madison U.S.A.. The University of Wisconsin Press.
- 20) Stoskopf M. (ed.) (1992). *Fish medicine*. Philadelphia. W.B. Saunders Company.
- 21) Weissenberg R. (1911-39-45). Citato da Ashley L.M. (1969).
- 22) Wellings S.R. (1969). *Environmental aspects of neoplasia in fishes*. In In fish in research (edito da Neuhaus O.W. and Halver J.E.), pp. 3-22. London. Academic Press.
- 23) Willis R.A. (1967). Citato da Mawdesley-Thomas L.E. (1975).