

CARCINOMA EPATOCELLULARE ASSOCIATO AD INFESTAZIONE DA CAPILLARIA NELLA TROTA IRIDEA (*Oncorhynchus mykiss*).

Beraldo Paola¹⁾, Sarti Massimo³⁾, Volpatti Donatella¹⁾, Frangipane di Regalbano Antonio²⁾, Galeotti Marco¹⁾.

¹⁾Unità di Patologia Comparata, ²⁾Unità di Parassitologia, Dipartimento di Scienze della Produzione Animale, Università di Udine, Via delle Scienze 206, 33100, Udine.

³⁾ Hendrix, Italia, Via Mozzecane, Verona.

Introduzione

La capillariosi epatica nei pesci d'acqua dolce è stata descritta in Europa ed in Asia da differenti autori (Moravec, 1994; Ghittino, 1961, 1985; Masoero e Forneris, 1986). La prima segnalazione di tale parassitosi si deve a Schulman (1948) come *Hepaticola petruschewskii*; in seguito nel 1961 Ghittino ha riportato una più completa descrizione denominandola *Capillaria eupomotis*. La biologia di tale nematode è stata descritta da Thieme (1961) e poi da Kutzer e Otte (1966) i quali hanno suggerito di identificarlo come *Capillaria petruschewskii*. Attualmente Moravec (1994) lo ha classificato come genere *Schulmanella* (Ivashkin, 1964 citato da Moravec, 1994) di cui l'unica specie é *S. petruschewskii*, riportando quali sinonimi le nomenclature sopra citate.

S. petruschewskii è un nematode di medie dimensioni (6-15 mm) che esibisce un basso grado di specificità per l'ospite, essendo stato ritrovato in molte specie di differenti famiglie. Questo parassita ha come sede elettiva il fegato ed il suo rinvenimento è più frequente nei pesci selvatici e negli ambienti dove sono presenti l'ospite intermedio (un anellide) e la fauna ittiofaga. Esistono, tuttavia, segnalazioni di capillariosi in pesci di allevamento, anche se, vista la bassa patogenicità del parassita, i dati sulla sua diffusione sono sicuramente sottostimati. Il carcinoma epatocellulare è una neoplasia spontanea descritta frequentemente nella trota iridea (*Oncorhynchus mykiss*) di allevamento (Roberts, 1989; Ghittino, 1985), nei Salmonidi ed anche in altre specie di pesci (Takashima, 1976; Smith *et al.*, 1979). Nell'eziopatogenesi di questa neoplasia si fa spesso riferimento all'azione cancerogena esercitata dalle aflatossine che possono inquinare i mangimi (Roberts, 1978; Schoenhard *et al.*, 1981 citato da Post, 1987; Ghittino, 1985) oppure alla presenza di idrocarburi aromatici nelle acque (Smith *et al.*, 1979). In questa indagine viene segnalato un episodio di capillariosi epatica in trote iridee provenienti da una tipica realtà di allevamento in policoltura in Friuli-Venezia Giulia. Tra

i soggetti colpiti da capillariosi sono stati rinvenuti due casi di carcinoma epatocellulare. Vengono descritti i quadri istologici peculiari della neoplasia e quelli indotti dal parassita nel fegato.

Materiali e metodi

Le trote iridee provenivano da un'azienda agricola che pratica policoltura nella pianura friulana. Nel periodo primaverile-estivo, in tale azienda è stata registrata una moderata mortalità tra i soggetti di media e grossa taglia, imputabile, dopo accertamenti anatomico-patologici e batteriologici, a bocca rossa. In alcuni soggetti, che si presentavano particolarmente emaciati, è stata riscontrata una infestazione da nematodi localizzata a livello epatico.

Sono stati utilizzati 9 soggetti, di taglia variabile tra 0,5 e 1,3 kg, dai quali sono stati prelevati organi interni da destinare alle successive indagini parassitologiche ed istologiche. Campioni di fegato, milza e contenuto intestinale sono stati esaminati a fresco con stereomicroscopio e microscopio ottico per individuare il parassita.

Per la processazione istologica sono state utilizzate porzioni di fegato, milza, rene, cuore, stomaco, intestino fissate in formalina tamponata al 10%. Le sezioni, colorate con Ematossilina-Eosina, Gomori e Tricromica di Masson, sono state osservate al microscopio ottico (Leitz DMRB).

Risultati

Dei 9 soggetti campionati, 7 sono risultati infestati. L'osservazione allo stereomicroscopio di sezioni grossolane del tessuto epatico ha permesso di osservare parassiti capillariformi di colore bianco-latteo. L'esame microscopico a fresco di piccole porzioni di parenchima epatico ha messo in evidenza uova di aspetto limoniforme provviste di tappi polari, larve a diverso stadio di sviluppo e parassiti adulti. Non sono mai stati osservati uova e/o parassiti nella milza e nel contenuto intestinale. Il fegato dei soggetti parassitati appariva scuro, aumentato di volume, con il profilo dei margini arrotondato e con evidente ispessimento della glissoniana, dalla quale trasparivano spesso piccoli noduli biancastri. La consistenza e la resistenza al taglio risultavano aumentate. In sezione, il parenchima epatico si presentava di colore scuro (verde-nerastro) disseminato da numerosi noduli biancastri. Le dimensioni dei noduli erano in genere limitate a pochi millimetri, ma in due dei soggetti esaminati si osservavano delle neoformazioni globose

nodulari bianco giallastre di notevoli dimensioni (circa 2 cm). In alcuni soggetti la milza appariva notevolmente aumentata di volume e, in taluni casi, presentava piccoli noduli biancastri simili a quelli rilevati nel fegato. Gli altri organi del pacchetto viscerale apparivano privi di alterazioni patologiche.

All'esame istologico l'organo maggiormente coinvolto era il fegato. Nei soggetti infestati le lesioni erano riconducibili a tre principali quadri riferibili a diversi stadi della malattia. Il I° quadro riguardava 2 soggetti, nei quali il parenchima epatico si presentava disseminato di uova isolate o riunite in piccoli ammassi. Sovente si osservavano parassiti adulti in fase di migrazione. Le uova rinvenute nel parenchima erano circondate da una blanda reazione fibro-connettivale messa in rilievo dalla tricromica di Masson e non evidenziata attorno ai parassiti. La reazione flogistica cellulare era caratterizzata da poche cellule mononucleate, per lo più linfociti, localizzate più frequentemente in vicinanza delle uova. Gli epatociti si presentavano nella norma e l'architettura del tessuto epatico era discretamente conservata. Nel II° quadro (3 soggetti) la reazione fibro-connettivale appariva più imponente. Il tessuto epatico presentava rari parassiti in fase migratoria e numerosissime uova disposte singolarmente o in piccoli ammassi circondati da spesse capsule fibro-connettivali. Si notava inoltre un'intensa reazione cellulare (linfociti e melanomacrofagi) soprattutto in prossimità dei dotti biliari, delle uova e di alcuni parassiti. Talvolta la reazione fibro-connettivale coinvolgeva anche gruppi di epatociti che presentavano evidenti segni di sofferenza, caratterizzati da iperacidofilia del citoplasma e dalla presenza di nuclei picnotici. Non era infrequente il rinvenimento di grosse cellule multinucleate soprattutto in prossimità delle aree parassitate. Le cellule multinucleate avevano le stesse caratteristiche tintoriali delle cellule epatiche, evidenziando tuttavia una maggiore acidofilia dei citoplasmi. Non si osservavano cellule epitelioidi nelle reazioni flogistiche più avanzate attorno ai parassiti. Nei due soggetti che macroscopicamente presentavano le neoformazioni nodulari è stato descritto il III° quadro, che riuniva alterazioni patologiche del tutto nuove rispetto alle precedenti. In ampie zone del tessuto epatico di entrambe le trote le lesioni istologiche erano del tutto sovrapponibili a quelle delineate nel II° quadro. Anche in tal caso non mancavano aspetti degenerativi degli epatociti e si osservavano cellule multinucleate. L'aspetto peculiare osservato in questi soggetti era la presenza di ampie porzioni di tessuto epatico neoformato delimitate da una capsula ben evidente con la tricromica di Masson. Le neoplasie erano costituite da abbondante tessuto fibro-connettivale, organizzato in fasci di fibre collagene, delimitanti

piccole formazioni adenomatose rotondeggianti composte da epatociti neoplastici. Tali epatociti, disposti a formare cordoni irregolari, risultavano di dimensioni leggermente aumentate e moderatamente atipici, con grossi nuclei chiari ed evidenti nucleoli. In altri casi i noduli perdevano completamente la strutturazione in cordoni e gli epatociti neoplastici erano tra loro distaccati, con atipie nucleari e rare mitosi. Spesso questi noduli erano aggrediti da un'abbondante infiltrazione di monociti-macrofagi dall'aspetto schiumoso. All'interno della capsula delimitante la massa di tessuto neoformato, le uova di capillaria erano rare. Le alterazioni neoplastiche a carico del fegato descritte in queste due trote erano ascrivibili ad un carcinoma epatocellulare. In uno dei due soggetti, tra le fibre muscolari del miocardio, si è evidenziato un gruppetto di cellule simile per dimensioni e caratteristiche istochimiche (PAS positività) alle cellule epatiche neoformate. Tali cellule costituivano una metastasi cardiaca del carcinoma epatocellulare. Sempre a livello cardiaco, nello stesso pesce, sono state riscontrate rare uova di capillaria fra le fibre miocardiche, non circondate da fibre connettivali e da infiltrato infiammatorio. Non sono state osservate alterazioni istologiche degne di rilievo a carico degli altri organi valutati.

Discussione

Il reperto di capillariosi epatica nei soggetti di trota iridea esaminati, potrebbe essere ascritto a nematodi appartenenti al genere *Schulmanella*. Sulla base della letteratura esistente al riguardo, nella famiglia Capillaridae l'unica specie del genere *Schulmanella* ad avere quale organo bersaglio il fegato è *S. petruschewski*. Inoltre, nell'ambiente e nella tipologia dell'allevamento da cui i soggetti provenivano, sembrano sussistere tutti gli elementi caratteristici del ciclo biologico di tale parassita, quali la fauna ittiofaga e l'ospite intermedio (*Eiseniella tetraedra*) (Moravec, 1994). Al momento attuale non è stata ancora effettuata una precisa identificazione del nematode in questione. In tutti i soggetti esaminati, l'organo maggiormente coinvolto era il fegato. Il quadro che si evince è quello di una epatite cronica di tipo fibrotico indotta dalla capillariosi. Le lesioni epatiche osservate nei vari soggetti sono riconducibili a due tipologie principali, che riflettono differenti stadi evolutivi della parassitosi. Nel primo stadio l'infestazione epatica era massiva, caratterizzata da numerose uova sparse o riunite in gruppetti e da adulti in fase di migrazione. La reazione flogistica era ancora iniziale e l'architettura dell'organo ben conservata. Nel secondo stadio si osservava una intensificazione sia della reazione fibro-

connettivale che della reazione flogistica cellulare, con peculiari caratteristiche di cronicità. Di notevole interesse è il III quadro descritto, in quanto capillariosi epatica e carcinoma epatocellulare potrebbero essere fenomeni concomitanti e sovrapposti oppure consequenziali. Vista l'alta incidenza del carcinoma epatocellulare della trota (Ghittino, 1985), provocato sovente dall'ingestione di alimenti inquinati da aflatossine, la prima ipotesi sembra avere maggiore credibilità; alcune trote dell'allevamento potrebbero avere sviluppato una neoplasia epatica ed essersi allo stesso tempo infestate con capillaria, manifestando così sovrapposizione dei due fenomeni ed esasperazione del processo fibroconnettivale riparativo. L'ipotesi che le lesioni neoplastiche siano state provocate dalla parassitosi è difficilmente dimostrabile. Essa non è comunque da escludere a priori, in quanto è noto che le neoplasie possono essere indotte da stimoli irritativi continui e prolungati nel tempo. Un'infestazione da capillaria epatica potrebbe essere uno stimolo (meccanico e chimico) sufficiente a determinare tale lesione. Bisogna infatti ricordare che esistono altri esempi di parassiti in grado di indurre trasformazioni neoplastiche, come *Spirocerca lupi*, che provoca neoplasie a carico dell'esofago del cane e *Cysticercus fasciolaris*, responsabile dei sarcomi nel fegato di ratto (Marcato, 1997). Interessante è anche il rinvenimento di uova del parassita a livello cardiaco, concomitante alla presenza di metastasi carcinomatose nello stesso organo. Dai dati bibliografici disponibili non risulta segnalato il reperimento di uova di capillaria nel tessuto miocardico di pesci. Questa indagine, sebbene limitata alla descrizione istologica delle lesioni, rappresenta comunque un interessante punto di partenza per ulteriori approfondimenti sulla possibile associazione parassita-tumore nell'eziopatogenesi di alcuni processi neoplastici.

Bibliografia

- 1) Ghittino P: Su una capillariosi epatica in trote di allevamento e in altri Teleostei delle acque libere del bacino del Po in Piemonte, con descrizione di una nuova specie (*Capillaria eupomotis*). Riv. Parassit., **22**, 193-204, 1961.
- 2) Ghittino P: Tecnologia e patologia in acquacoltura. Edizioni Bono, Torino. Vol. 2, Patologia, pp 352-358, 1985.
- 3) Kutzer E, Otte E: *Capillaria petruschewskii* (Shulman, 1948): Morphologie, Biologie und Pathogene Bedeutung. Z. Parasitenk, **28**: 16-30, 1966.
- 4) Marcato PS: Anatomia e istologia patologica generale veterinaria. Ed. Esculapio, Bologna, pp 496-497, 1997.

- 5) Masoero L, Forneris G: Prime osservazioni sulla capillariosi epatica rinvenuta nella trota marmorata (*S. Trutta marmoratus*) del Po in Piemonte. Riv. It. Piscic. Ittiop. **XXI** (3), 97-99, 1986.
- 6) Moravec F: Parasitic nematodes of freshwater fishes of Europe. Eds. Kluwer Academic Publisher, London, 1994.
- 7) Post G: Neoplastic diseases in fish. In "Textbook of Fish Health", T.F.H. Publ., Inc. Pp 241-249, 1987.
- 8) Roberts RJ: Neoplasia of Teleosts, pp 153-172. In "Fish Pathology", RJ Roberts (Ed), Baillière Tindall, London, 1989.
- 9) Smith CE, Peck TH, Klauda RJ, McLarens JB: Hepatomas in Atlantic tomcod *Microgadus tomcod* (Walbaum) collected in the Hudson river estuary, New York. J. Fish Dis., **2**, 313-319, 1979.
- 10) Takashima F: Hepatoma and cutaneous fibrosarcoma in hatchery-reared trout and salmon reared to gonadal maturation. Prog. Exp. Tumours Res., **20**, 351-366, 1976.
- 11) Thieme H: *Capillaria acerinae* nov. Spec. (Nematoda, Trichuroidea), ein neuer Haarwurm aus der Leber von Kaulbarsch (*Acerina cernua*). Zool. Anz., **166**, 136-139, 1961.