

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

**ESTANDARIZACIÓN HISTOLÓGICA DE LESIONES HEPÁTICAS EN
ESTURIONES RUSOS (*Acipenser gueldenstaedtii*) PROVENIENTES DE UN
CRIADERO COMERCIAL (BAYGORRIA, DURAZNO).**

por

María Emilia ROSSINI PAGANI

TESIS DE GRADO presentada como uno
de los requisitos para obtener el Título de
Doctor en Ciencias Veterinarias
Orientación: Medicina Veterinaria

MODALIDAD: Ensayo experimental

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2025**

PÁGINA DE APROBACIÓN

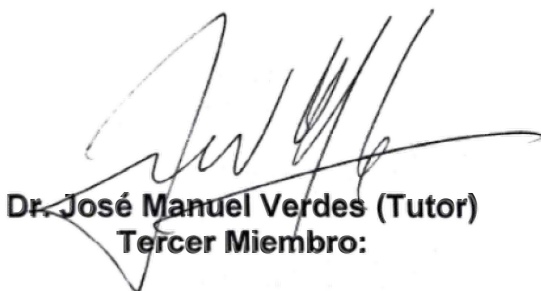
FIRMAS DEL TRIBUNAL

Presidente del Tribunal de Defensa:



Dr. Claudio Borteiro

Segundo Miembro:



Dr. José Manuel Verdes (Tutor)
Tercer Miembro:



Dr. Emiliano Herrera
Cuarto Miembro:



Dr. Alejandro Perreta (Co-Tutor)

AUTOR



María Emilia ROSSINI PAGANI

Fecha:

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. José Manuel Verdes, por haberme tenido en cuenta desde el primer momento en que surgió esta propuesta de tesis. A poco de haber comenzado a integrarme al área de patología, le compartí mi interés por los animales acuáticos, y no dudó en incluirme en este desafío, ofreciéndome siempre su apoyo y abriéndome las puertas a todo lo que estuvo a su alcance.

Al Dr. Alejandro Perreta, cotutor de esta tesis, quien hizo posible el vínculo con la empresa y aportó sus conocimientos específicos, que junto con los de mi tutor permitieron abordar este trabajo, que en sus comienzos parecía un desafío inmenso.

Agradezco especialmente al tribunal, por haberse tomado el tiempo de leer el trabajo y aceptar formar parte de este proceso académico: al Dr. Claudio Borteiro y al Dr. Emiliano Herrera.

A la empresa Esturiones del Río Negro y al Ing. Aq. Daniel Conijeski, por brindarnos su colaboración y permitirnos llevar adelante este estudio.

A mi compañera y técnica de laboratorio Victoria Yozzi por el procesamiento de los materiales para la obtención de láminas impecables.

A mis amigos, compañeros y familia que construir estos casi 10 largos años de carrera: a mis primeras amigas de la facultad Vicky y Vale, a mis amigos y compañeros de la Poli con los que vivimos tantas aventuras y proyectos Kathy, Mar, Will, Cari, Sil, Flor, Nata, Lau y Bel, a mis compañeros de carrera, compañeros de pasillos en Patobiología y compañeros de trabajo de Patología.

Finalmente, a mi familia: gracias por su apoyo incondicional durante estos años que no siempre fueron fáciles. Y a mis amigos y pareja, por estar siempre, por sostener, por celebrar y acompañar cada paso.

A todas estas personas y espacios, les debo más de lo que puede resumir esta página, les debo haber llegado hasta aquí.

Muchas gracias.

TABLA DE CONTENIDO

PÁGINA DE APROBACIÓN	2
FIRMAS DEL TRIBUNAL	2
AGRADECIMIENTOS	3
TABLA DE CONTENIDO	4
TABLA DE FIGURAS	5
RESUMEN	7
ABSTRACT	8
INTRODUCCIÓN	9
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	11
Generalidades del esturión ruso <i>Acipenser gueldenstaedtii</i>	11
Anatomía hepática normal del esturión	12
Histología normal del esturión	14
Antecedentes de lesiones hepáticas en <i>Acipenser</i> spp.	18
FUNDAMENTACIÓN E HIPÓTESIS DEL PRESENTE TRABAJO DE TESIS	23
OBJETIVOS	24
Objetivo general	24
Objetivos específicos	24
MATERIALES Y MÉTODOS	25
Muestreo de hígados durante la faena	25
Estudio macroscópico.	25
Estudio histopatológico	26
Protocolo de estandarización de lesiones histopatológicas	26
Criterios para la asignación de score para activación del sistema retículo endotelial (ASRE)	27
Análisis estadístico de los resultados	29
RESULTADOS	30
Registros individuales	30
Identificación de las principales alteraciones	32
DISCUSIÓN	43
CONCLUSIONES	46
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47

TABLA DE FIGURAS

Figura 1. Ilustración de esturión ruso (tomado de Chebanov & Galich, 2013)...	13
Figura 2. Anatomía de los órganos internos del esturión siberiano, en “Li” (liver) se indica el hígado (tomado de Chebanov & Galich, 2013)	14
Figura 3. Anatomía de los órganos internos del esturión ruso. “Li” se corresponde con hígado (tomado de Chebanov & Galich, 2013).....	14
Figura 4. Centros de melanomacrófagos en la región portal del hígado de un esturión siberiano (<i>Acipenser baerii</i>). Edad y sexo no especificadas (tomado de Wolf et al. 2015).....	18
Figura 5. Hígados de alevines sanos (30±2g) donde se ve una importante infiltración del tipo graso (A: <i>Acipenser medirostris</i> , B: <i>Acipenser transmontanus</i>) (tomado de Lee et al., 2012).....	18
Figura 6. Hígados de esturiones siberianos sanos (<i>Acipenser baeri</i>) de un año de edad (tomado de Khorshidi & Keyvanshokoo, 2024)	19
Figura 7. Lóbulo hepático normal de un esturión ruso (<i>Acipenser gueldenstaedtii</i>) sano de un año de edad. CV= vena central, flechas verdes=melanomacrófagos (tomado de Rzepkowska et al., 2021)	19
Figura 8. Cálculo del radio de 5 centros de melanomacrófagos rodeando una estructura a lo largo de toda la lámina del bloque 24 B (Tinción HE, vista panorámica de la lámina escaneada a 0.55x).....	29
Figura 9. Los círculos amarillos señalan centros de melanomacrófagos de más de 30 µm en un campo de 10 x. Bloque 24 A (Tinción HE, 10 x).....	30
Tabla 1. Se muestran: número de identificación (ID), número de trazabilidad (N°), largo total (LT), masa corporal (MC), índice de masa corporal (IMC), masa relativa de gónadas (MRG), masa relativa de membranas (MRM), masa relativa del caviar (MRC), masa relativo del hígado (MRH) y color.....	32
Figura 10. Coloraciones de hígados. Coloración 1 en ID 9; Coloración 2 en ID 12; coloración 3 en ID 17; Coloración 4 en ID 16.....	33

Figura 11. Hiperemia subcapsular en bloque 3 A. Nótese los sinusoides detenidos debido al contenido de eritrocitos (Tinción HE, 10 x).....	34
Figura 12. El círculo amarillo punteado indica una hemorragia focal en el bloque 18 B (Tinción HE, 10 x)	34
Figura 13. Score de fibrosis 0 en bloque 21 A. Se indica con flechas amarillas las díadas y tríadas (Tinción HE, 10 x)	35
Figura 14. Score 2 de fibrosis 2 en bloque 12 A. Las flechas amarillas indican las zonas fibrosadas (Tinción HE, 10 x)	36
Figura 15. Score de fibrosis 4 en bloque 1 A (Tinción HE, 10 x).....	36
Figura 16. Score 4 de alteraciones citoplasmáticas en bloque 4 A (Tinción HE, 20 x).....	37
Figura 17. Score 6 de alteraciones citoplasmáticas en bloque 12 A, donde se puede observar un gran desplazamiento nuclear (Tinción HE, 20 x).....	37
Figura 18. Hígado 19 A con un aumento de depósitos intracelulares, se indican algunos de ellos con las flechas amarillas (Tinción HE, 20 x).....	38
Figura 19. Hipertrofia ductal en bloque 4 A. Puede verse un ducto de tamaño más pequeño de apariencia más “normal” a la derecha (Tinción HE, 20 x).....	39
Figura 20. Hiperplasia ductal en bloque 12 A. La flecha amarilla indica nuevos ductos proliferando alrededor de un gran ducto revestido por un epitelio estratificado (llave amarilla) (Tinción HE, 20 x).....	39
Figura 21. Los números 1 y 3 indican el corte histológico y la macroscopía del hígado 9 (color 1) . Los números 2 y 4 indican el corte histológico y la macroscopía del hígado (color 4) (Tinción HE, vista panorámica).....	40
Tabla 2. El color con sus valores máximos, mínimos y promedios de grado de ASRE, con el valor de score correspondiente para cada categoría.....	41
Tabla 3. Valores finales compuestos por el promedio de cada bloque A y B de cada hígado.....	42

RESUMEN

El objetivo de éste estudio fue estandarizar la clasificación de las lesiones hepáticas de hembras de esturiones rusos (*Acipenser gueldenstaedtii*) provenientes de un criadero productor de caviar . Durante la faena, se realizó biometría y se muestreó el hígado para un estudio histopatológico. Para el estudio histopatológico, se estandarizó la clasificación de las lesiones hepáticas siguiendo los criterios previamente definidos, para obtener resultados cuantificables para cada animal.

Pudimos comprobar que la coloración del hígado guarda una relación alta con el daño hepático. A su vez, pudimos determinar que el daño hepático estaba más que nada correlacionado con parámetros que nos indican procesos inflamatorios, como lo fue la activación del sistema retículo endotelial y el infiltrado de células inflamatorias. También pudimos comprobar que estas alteraciones no guardaban relación con la cantidad de caviar que producía cada individuo, lo cual es un dato interesante para un sistema productivo.

Este estudio aportó al entendimiento de la sanidad de una de las poblaciones de esturiones de los sistemas productivos en Uruguay, estableciendo parámetros base para estudios futuros. Lo cual es algo muy importante en el entendimiento de las alteraciones hepáticas en función de su contexto productivo. Comprender cómo afectan las diferentes condiciones metabólicas y sanitarias en la salud y el rendimiento productivo resulta fundamental para garantizar la sostenibilidad del rubro.

ABSTRACT

The objective of this study was to standardize the classification of hepatic lesions in female Russian sturgeons (*Acipenser gueldenstaedtii*) from a caviar farm. Biometric data along with liver samples for histopathological analysis were collected during slaughter. For the histopathological analysis, the classification of hepatic lesions was standardized according to previously defined criteria, in order to obtain quantifiable results for each individual.

Our findings showed that liver coloration presented a moderately high correlation with hepatic damage. Additionally, we determined that liver damage was primarily associated with inflammatory processes, as indicated by the activation of the reticuloendothelial system and inflammatory cells infiltration. Furthermore, we confirmed that these alterations were not related to the amount of caviar produced by each individual, a relevant insight for productive systems.

This study contributes to the understanding of the health status of sturgeon populations in aquaculture systems in Uruguay, establishing baseline data parameters for future research. This is highly relevant for understanding hepatic alterations in relation to their productive context. Understanding how different metabolic and health conditions affect overall health and production performance is essential to ensure the sustainability of the industry

INTRODUCCIÓN

La acuicultura es una de las actividades productivas que más se ha expandido en las últimas décadas, superando en ritmo de crecimiento anual al resto de las producciones animales. Teniendo en cuenta el desarrollo del sector y la sobreexplotación de muchas de las pesquerías comerciales; en la actualidad, casi el 50% de los productos acuáticos que se consumen a nivel mundial provienen de la acuicultura (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2018).

Un valioso producto de la acuicultura es el caviar, que consiste en las huevas (ovocitos no fecundados) de los esturiones, las cuales son saladas y procesadas para su comercialización (Programa Conjunto FAO/OMS sobre Normas Alimentarias. Comisión del Codex Alimentarius, 2010). En éste contexto, Uruguay se destaca como el mayor productor de caviar en Sudamérica y uno de los diez principales productores a nivel mundial. Con dos pisciculturas intensivas ubicadas en las localidades de San Gregorio de Polanco (Tacuarembó) y Rincón de Baygorria (Durazno), la producción anual de carne de esturión supera las 85 toneladas y la producción de caviar supera las siete (Perretta et al., 2019).

A pesar de que los esturiones se han adaptado bien al cultivo en nuestro país, las condiciones de estrés térmico que se presentan en los meses cálidos predisponen al desarrollo de enfermedades (Castellano et al., 2017). Si bien se han identificado y caracterizado algunas de estas patologías, como infecciones bacterianas (Perretta et al., 2009; 2018), el relevamiento continuo de las enfermedades y alteraciones se vuelve fundamental para asegurar la sobrevida y el bienestar de estos animales que pueden estar hasta 7 años en producción intensiva.

Debido a que las características del sistema de producción y el valor económico que posee cada individuo dificultan el empleo de técnicas de monitoreo sanitario rutinarias como las utilizadas en otro tipo de pisciculturas (ej. necropsias a un número representativo de individuos), el empleo de técnicas alternativas de monitoreo se vuelve indispensable.

La histopatología es una herramienta fundamental en el estudio de los estímulos nocivos sobre los tejidos y su vinculación con lesiones macroscópicas y enfermedades diagnosticadas clínicamente en animales. Pese a ello, la evaluación histopatológica está sujeta a la subjetividad del patólogo, porque, en muchas especies, aún no existen metodologías estandarizadas de evaluación que conduzcan a resultados objetivos y reproducibles, y menos aún, las que permitan una evaluación estadística posterior para correlacionar los hallazgos histológicos con el desarrollo de enfermedades clínicas que afecten la salud, el bienestar y la producción animal. Si bien existen técnicas y tinciones histológicas estandarizadas para la obtención de preparados histológicos, no ocurre lo mismo con la identificación de la histología normal y su alteración en tejidos provenientes de especies productivas no convencionales como los peces, especialmente en nuestro país.

Existen antecedentes en peces (Bernet et al. 1999) que proponen identificar los cinco principales patrones de cambios patológicos en tejidos sometidos a estímulos lesivos, clasificándolos en un score del 0 al 6 dependiendo del grado de extensión, y del 1 al 3 por el grado de importancia que tiene la lesión sobre la función normal de cada órgano (Rey et al. 2020). De esta forma, se lograría comparar de manera cuantitativa hallazgos histopatológicos en órganos específicos de estas especies entre diferentes estudios.

Por todo lo mencionado, este estudio se enfoca en la estandarización del grado de lesiones histopatológicas en el hígado de una población comercial de esturiones. Siendo el hígado uno de los principales órganos “diana” de patologías en organismos acuáticos, siendo vulnerable ante las condiciones ambientales, tipo de alimentación e inclusive procesos infecciosos (Aydin et al. 2015; Bernet et al. 1999; Myers et al. 1998; OIE 2000; Roberts, 2012; Wolf et al. 2015).

De esta forma, este estudio establece criterios para la evaluación histopatológica del hígado de los esturiones rusos, aportando información original y de base sobre las condiciones productivas, metabólicas y ambientales que influyen en la salud de la especie, aportando al conocimiento de un rubro de la producción animal poco explorado en Uruguay.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Generalidades del esturión ruso *Acipenser gueldenstaedtii*

A grandes rasgos los peces se dividen en dos superclases: los Chondrichthyes o peces cartilaginosos, y los Osteichthyes que son los peces óseos. Los esturiones se clasifican dentro de los peces óseos (superclase Osteichthyes) en la clase Actinopterygii, subclase Chondrostei, del orden Acipenseriformes; pero no poseen un esqueleto completamente calcificado, por lo que son un grupo de peces que presenta características únicas que se asemejan a las de especies más primitivas como lo son los Chondrichthyes (peces cartilaginosos como los tiburones). El orden Acipenseriformes, incluye dos familias principales: Acipenseridae, los llamados “esturiones” (Figura 1) y Polyodontidae, los paddlefish o “peces paleta” (Chebanov & Galich, 2013; Froese & Pauly, 2025; LeBreton, 2004; Van Eenennaam et al., 2004).

Dentro de la familia Acipenseridae se reconocen aproximadamente 25 especies de esturiones que se distribuyen en varias regiones del mundo, especialmente en aguas dulces y costeras (LeBreton, 2004; Van Eenennaam et al., 2004). Son consideradas un viejo linaje evolutivo sin grandes cambios en los últimos 200 millones de años (Chebanov & Galich, 2013; LeBreton, 2004; Van Eenennaam et al., 2004). Como principales características poseen un esqueleto cartilaginoso; un cuerpo alargado y fusiforme; en lugar de escamas óseas, poseen placas óseas llamadas “escudos” distribuidas a lo largo del cuerpo; rostro espatulado que los ayuda a alimentarse en el fondo del agua; una cola heterocerca, la cual presenta una parte superior más larga que la inferior; notocordio preservado en la forma adulta; y una reproducción, en general, anádroma, lo que significa que migran desde el mar hacia ríos para desovar (Chebanov & Galich, 2013; LeBreton, 2004; Van Eenennaam et al., 2004).

El *Acipenser gueldenstaedtii* conocido como “esturión ruso” es una de las especies de esturiones con mayor distribución. Habita el Mar Negro, Caspio, el Mar de Azov y ríos que desembocan en estos mares (Chebanov & Galich, 2013).

El ciclo productivo del esturión y la producción de caviar son procesos complejos que involucran varias etapas que incluyen la reproducción, incubación, la cría y el alevinaje, el engorde y la cosecha del caviar (Chebanov & Galich, 2013). El ciclo productivo abarca muchos años, a pesar de que los esturiones rusos en condiciones de cultivo alcanzan la madurez sexual entre los 6 y 8 años de edad, y no entre 8 y 15 años como sucede en condiciones naturales (Chebanov & Galich, 2004). Cuando las hembras maduraron y han acumulado grasa en los ovarios, se procede al sacrificio de las mismas y la extracción de los huevos. Una vez colectados los huevos, éstos son lavados, salados y envasados (Chebanov & Galich, 2013).



Figura 1. Ilustración de esturión ruso (tomado de Chebanov & Galich, 2013).

Anatomía hepática normal del esturión

La anatomía del tracto digestivo de los esturiones se encuentra en el intermedio de la de los peces cartilagosos y peces óseos (Chebanov & Galich, 2013). Sus características son las típicas de un carnívoro: es corto (70 a 100% del largo del cuerpo) y consiste en un esófago, estómago secretorio, estómago no secretorio, intestinos, ciego pilórico, válvula espiral, recto, hígado y páncreas. Éstos últimos se encuentran fusionados en ciertos puntos, conformando lo que se denomina “hepatopáncreas” (Ali & Gholamhosseini, 2020). El hígado es entonces una glándula y órgano parenquimatoso compuesto por dos lóbulos (izquierdo y derecho), localizado en la porción craneal de la cavidad corporal (Figura 2 y 3) (Ali & Gholamhosseini, 2020; Chebanov & Galich, 2013). En los esturiones, la vesícula biliar está ubicada en la parte posterior del hígado y está conectada con el duodeno a través del conducto biliar (Chebanov & Galich, 2013). El páncreas presenta dos extremos: uno craneal que se encuentra en estrecho contacto con el hígado en el borde interno de la glándula, y otro ubicado hacia la derecha del duodeno (Chebanov & Galich, 2013; Weisel, 1979). En

los peces en general, el hígado posee una coloración muy variable dependiendo de la dieta, estación y estadio reproductivo, donde los depósitos de glucógeno y lípidos varían enormemente (Wolf et al. 2015)

Figure 136: Structure of inner organs of Siberian sturgeon. **Key:** Ht – heart; GB – gall bladder; Li – liver; PSt – pyloric stomach; Pgl – pyloric gland; CSt – cardiac stomach; Du – duodenum; S – spleen; GeGd – generative part of the gonad; FtGd – fat part of the gonad; SG – spiral gut; Hg – hind gut; An – anus.

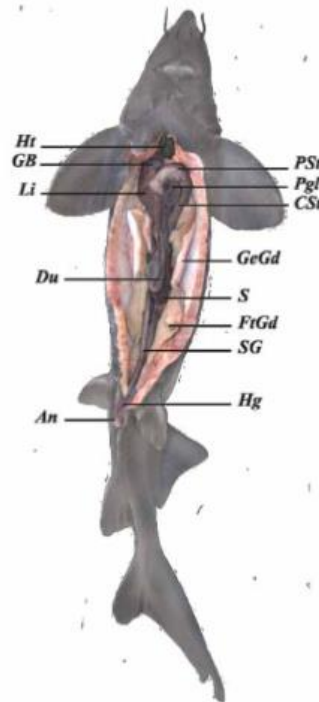


Figura 2. Anatomía de los órganos internos del esturión Siberiano, en “Li” (liver) se indica el hígado (tomado de Chebanov & Galich, 2013).

Figure 137: Structure of the inner organs of Russian sturgeon. **Key:** Es – oesophagus; Li – liver; GB – gall bladder; PSt – pyloric stomach; Pgl – pyloric gland; CSt – cardiac stomach; SwB – swimbladder; Du – duodenum; S – spleen; SG – spiral gut; Hg – hind gut; An – anal opening.

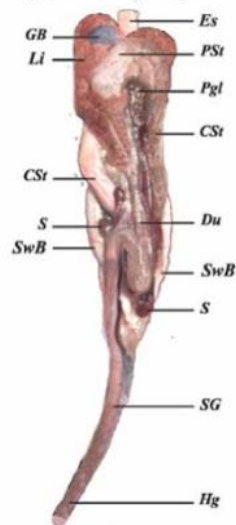


Figura 3. Anatomía de los órganos internos del esturión ruso. “Li” se corresponde con

hígado (tomado de Chebanov & Galich, 2013)

Histología normal del esturión

En base a nuestro conocimiento, existen pocos estudios que incluyan imágenes histológicas de hígados considerados “normales” en esturiones. De hecho, a lo largo de la revisión bibliográfica realizada para este trabajo, se pudieron identificar al menos cuatro artículos que comparten imágenes histológicas de hígados considerados “normales” de esturiones sometidos a diferentes estudios experimentales (Figura 4, 5, 6 y 7) (Khorshidi & Keyvanshokoh, 2024; Lee et al., 2012; Rzepkowska et al., 2021; Wolf et al., 2015). Y dentro de éstas imágenes se observan grandes diferencias en cuanto al grado de alteraciones plasmáticas, desde mínimas (Figura 4 y 7) hasta muy marcadas (Figura 5 y 6), pero en ninguna se habla de la normalidad del hígado en hembras en fases reproductivas.

Es bien sabido que la apariencia de los hígados está influenciada por múltiples factores, de hecho, numerosas fuentes bibliográficas mencionan que, en peces, la apariencia de los hepatocitos, así como la coloración, textura y citoplasma varían en función de la especie, estación, estado nutricional, edad, sexo, fase reproductiva y la exposición a contaminantes o enfermedades inflamatorias (Akiyoshi, 2004; Bruno et al., 2013; Ferguson, 2006; Ostrander, 2000; Wolf et al., 2015). Por ejemplo, durante el estadio reproductivo, la producción de vitelo puede causar un moteado basofílico en los hepatocitos (Wolf et al., 2015). Asimismo, el acúmulo de glucógeno o lípidos, que depende de la especie y la dieta, ha llevado al sobre diagnóstico de lipidosis hepática, que en muchos casos es un hallazgo normal (Wolf et al., 2015). Se recomienda emplear el término “lipidosis” sólo cuando haya alteraciones funcionales importantes, como daño en las membranas celulares o saponificación (Wolf et al., 2015).

El hígado de los peces teleósteos está compuesto principalmente por hepatocitos, los cuales son células poligonales de núcleo redondeado y polarizadas con un polo biliar y otro sinusoidal. Contienen retículo endoplásmico rugoso alrededor del núcleo, mitocondrias y depósitos de glucógeno los cuales pueden ocupar hasta la mitad del volumen citoplasmático. Las células endoteliales son alargadas y el núcleo protruye hacia el lumen de los sinusoides, entre ellas y los hepatocitos se encuentra el espacio

de Disse (Akiyoshi, 2004; Bruno et al. 2013; Ferguson, 2006; Ostrander, 2000; Roberts, 2012). Dentro del espacio de Disse pueden encontrarse células de Ito o células almacenadoras de grasa, que también poseen otras funciones como conversión y almacenamiento de vitamina A (Akiyoshi, 2004; Ferguson, 2006; Roberts, 2012).

En el hígado pueden verse centros de melanomacrófagos (Figura 4), así como también en riñón y bazo. Se presume que son el equivalente de los centros germinales de aves y mamíferos. Son agregados de macrófagos que contienen pigmentos como hemosiderina, lipofuscina y melanina. Presentan funciones como eritrofagocitosis, depósito de hierro y presentación de antígenos. Estos centros pueden variar en tamaño, número y contenido de pigmentos debido a la exposición a tóxicos o degradación ambiental. Aunque algunos autores han relacionado su presencia con toxicosis ambiental, estos centros tienden a aumentar con la edad del pez, por lo que es fundamental considerar este factor en cualquier evaluación (Myers et al. 1998; Wolf et al., 2015). Roberts (2012) además indica que los centros de melanomacrófagos aparecen cuando los peces almacenan lípidos en el hígado, pero también pueden aparecer ante un déficit vitamínico.

Las inclusiones eosinofílicas o anfifílicas en el citoplasma hepatocítico, que pueden contener sustancias como proteínas, ceroides, lipofuscina, eritrocitos fagocitados o pigmentos de hierro, no necesariamente indican una degeneración patológica cuando se presentan en pequeñas cantidades. Sin embargo, un acúmulo significativo de lipofuscina o ceroides podría señalar un desbalance dietario relacionado con antioxidantes como la vitamina E y el selenio (Wolf et al., 2015).

En peces se describen macrófagos residentes en hígado que recuerdan a las llamadas células de Kupffer de los mamíferos lo cual le confiere al hígado una función inmune esencial en la fagocitosis y presentación de antígenos (Bruno et al. 2013; Ferguson, 2006; Ostrander, 2000; Roberts, 2012; Wolf et al., 2015).

A diferencia de los mamíferos, los hepatocitos tienden a organizarse en hileras o cordones menos definidos, lo que resulta en una estructura lobulillar menos clara (Roberts, 1989; Ostrander, 2000). De acuerdo a Akiyoshi (2004) las estructuras

hepato-sinusoidales se clasifican en: acordonadas (una fila de hepatocitos), tubulares y sólidas (múltiples hileras). La estructura del tracto biliar se clasifica en función del acompañamiento vascular que tengan presentando el tipo aislado, tipo de tracto biliar-arteriolar, tracto biliar-venoso y tipo de tracto portal. A modo de ejemplo, los Salmoniformes (peces óseos) suelen presentar la forma aislada, biliar-arteriolar y portal, pero de igual manera no existen estudios específicos sobre los Acipenseriformes. Al igual que en los mamíferos, los ductos biliares más pequeños están formados por epitelio cuboidal simple (Akiyoshi, 2004; Genten et al., 2009; Ostrander, 2000).

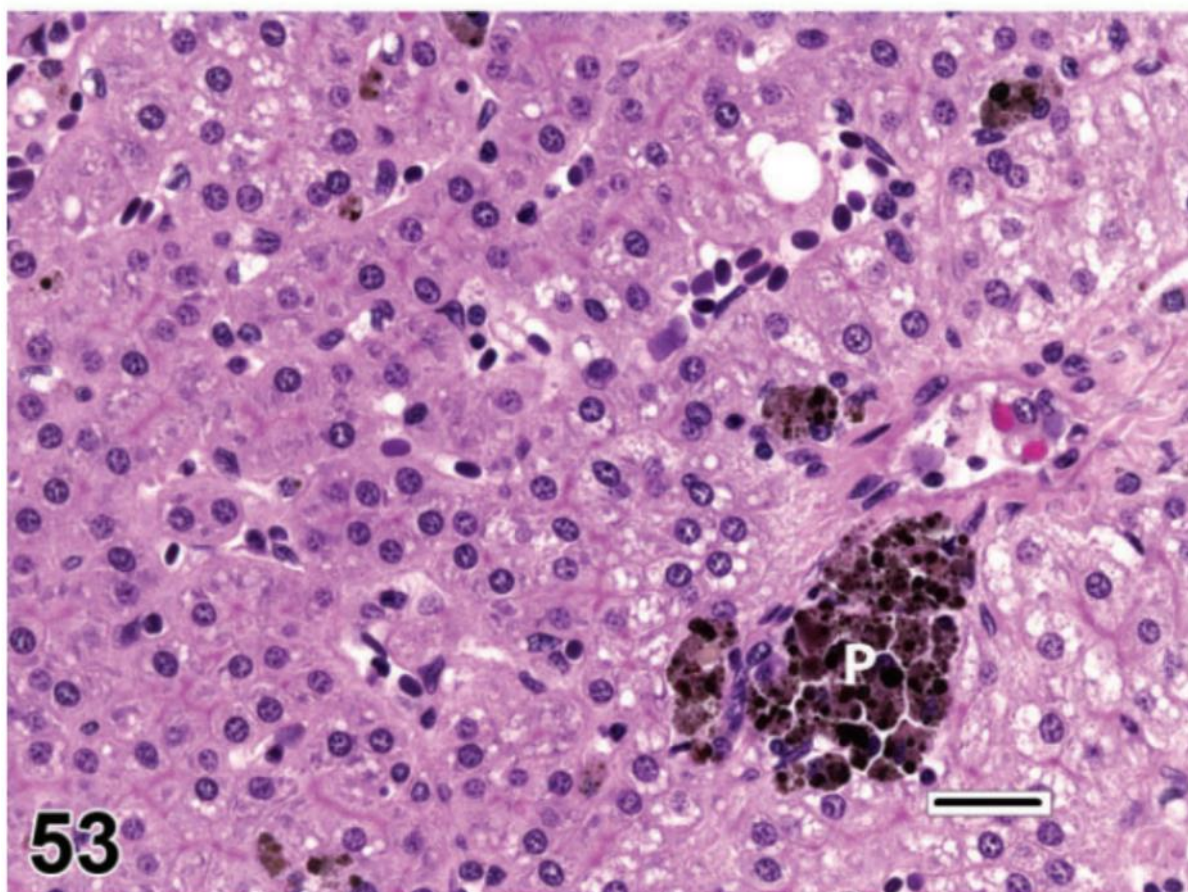


Figura 4. Centros de melanomacrófagos en la región portal del hígado de un esturión siberiano (*Acipenser baerii*). Edad y sexo no especificadas (tomado de Wolf et al. 2015).

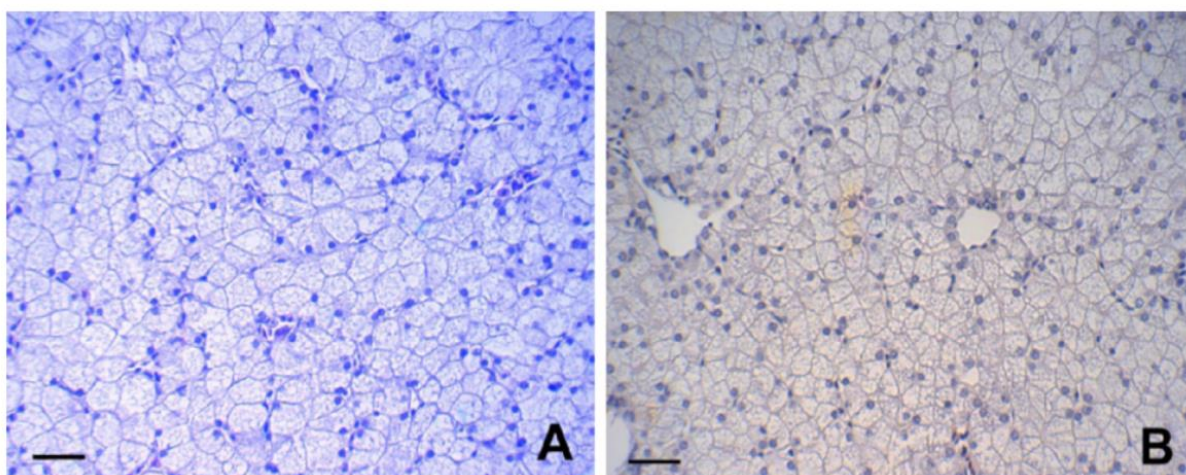


Figura 5. Hígados de alevines sanos ($30\pm 2g$) donde se ve una importante infiltración del tipo graso (A: *Acipenser medirostris*, B: *Acipenser transmontanus*) (tomado de Lee et al., 2012).

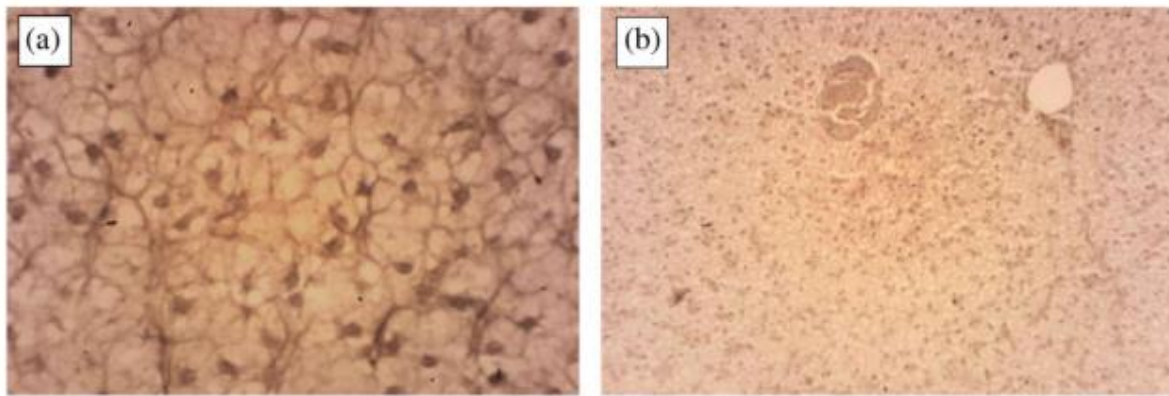


Figura 6. Hígados de esturiones siberianos (*Acipenser baeri*) sanos de un año de edad (tomado de Khorshidi & Keyvanshokoo, 2024).

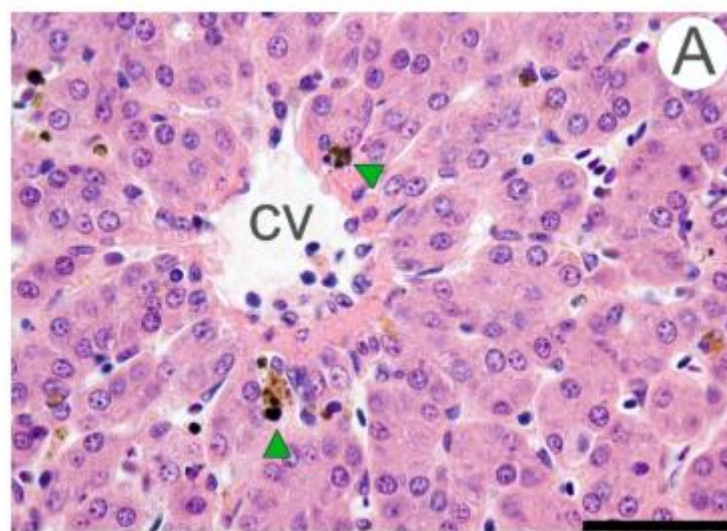


Figura 7. Lóbulo hepático normal de un esturión ruso (*Acipenser gueldenstaedtii*) sano de un año de edad. CV= vena central, flechas verdes=melanomacrófagos (tomado de Rzepkowska et al., 2021).

Antecedentes de lesiones hepáticas en *Acipenser* spp.

En base a nuestro conocimiento, existen al menos siete publicaciones en especies de esturiones (Acipenseridae) que utilizan la histología hepática como una herramienta para evaluar la salud (Khorshidi & Keyvanshokoo, 2024; Koshelev & Ruban, 2021; Kruse et al., 2002; Lee et al., 2012; Poleksic & Lenhardt, 2010; Rahbar, 2020; Rzepkowska et al., 2021). Lo cual es muy poco considerando que son especies que poseen un gran valor económico dentro de los sistemas productivos como lo es la producción de caviar. Además de que muchas especies de esturiones, como los

esturiones rusos (*Acipenser gueldenstaedtii*), se encuentran en peligro crítico de extinción debido a la sobreexplotación, pérdida de hábitat y contaminación (Poleksic & Lenhardt, 2010; Rzepkowska et al., 2021). Otro motivo interesante por el que estudiar estas especies es su ciclo biológico complejo, que implican migraciones, largas esperanzas de vida y hábitos de alimentación bentónicos, lo que los convierte en excelentes bioindicadores de la salud de los ecosistemas (Kruse et al., 2002; Poleksic & Lenhardt, 2010).

El primer artículo sobre el que tenemos conocimiento es el de Kruse et al. (2002). En éste artículo investigaron el impacto de los residuos de organoclorados y metales en la salud de los esturiones blancos (*Acipenser transmontanus*) adultos y juveniles del Río Kootenai (Estados Unidos). Para ello, capturaron esturiones adultos salvajes y esturiones juveniles de criadero liberados en el río en el marco de un programa de recuperación de la población. El análisis de residuos indicó que varios metales y organoclorados se encontraban a niveles que podían comprometer la salud reproductiva y otras funciones fisiológicas. En cuanto a los hígados no se observaron grandes alteraciones que eventualmente pudieran comprometer la funcionalidad. Un 80% de las muestras contenían pequeñas áreas de agregados linfocitarios, un 96% contenían una cantidad superior de melanina que otras muestras, 32% presentaron áreas focales de necrosis y un 4 % presentó una infiltración grasa mayor que el resto.

Más tarde, Poleksic & Lenhardt (2010), investigaron el impacto de la contaminación por metales pesados en la salud del *Acipenser ruthenus* en diferentes sitios de la cuenca del Río Danubio en Hungría y Serbia. Capturaron animales silvestres de diferentes tamaños y edades y evaluaron el impacto midiendo los niveles de metales pesados en diferentes tejidos y su correlación con los cambios histopatológicos en branquias, piel e hígado. Los análisis revelaron que los órganos con mayor cantidad de lesiones subletales eran el hígado y la piel, mientras que el órgano con mayor concentración de metales pesados era el hígado. Los cortes histológicos fueron analizados por el sistema de scores propuesto por Bernet et al. (1999) y se identificó que el cambio más común fue la fibrosis (77.5% de los peces examinados), infiltración focal de leucocitos (52.5%), congestión de los sinusoides (40%) y vasodilatación (22.5%). Se registró edema hepatocitario en el 47.5% de los casos y centros melanomacrofágicos en el 30%. También se evidenció cirrosis (20% de las muestras)

y necrosis (necrosis focal observada en el 50% de las muestras analizadas). Finalmente, se notaron algunos signos de regeneración sólo en muestras de Serbia (7.5% del total analizado). El sistema de Bernet et al. (1999) en este caso fue muy útil para establecer qué órgano fue el más afectado, siendo el hígado el más comprometido, seguido de la piel y branquias. A su vez, gracias al sistema de scores se pudo determinar que los cambios histopatológicos diferían significativamente entre localidades, siendo el lugar más afectado el que tenía una mayor concentración de contaminantes.

Lee et al. (2012) condujeron un ensayo experimental para determinar las alteraciones histopatológicas de juveniles de *Acipenser medirostris* y *Acipenser transmontanus* de criadero expuestos a diferentes niveles de metilmercurio dietario, un contaminante ambiental. En ambos casos se observaron alteraciones a nivel hepático y renal, las cuales empeoraron a mayores dosis. También se determinó que había diferencias en la respuesta entre especies, siendo el *Acipenser medirostris* la especie más sensible. Este estudio proporcionó fotos de la histopatología normal de los grupos de control, donde se observa que a veces los animales presentaban alteraciones citoplasmáticas de base que la describen como “reserva lipídica” (Figura 5). Los resultados indicaron que la degeneración vacuolar fue la alteración más prevalente, seguido de depleción de glucógeno y por último necrosis hepatocelular. Otros tejidos como riñones, músculo esquelético, músculo cardíaco y branquias fueron estudiados. El estudio indica que el metilmercurio podría producir cambios severos en el metabolismo normal hepático.

Rahbar (2020) estudió la bioquímica y las alteraciones histopatológicas de los esturiones persas *Acipenser persicus* expuestos a malatión, un pesticida. En este ensayo experimental se sometieron alevines de esturiones a diferentes concentraciones de malatión para determinar el daño producido a nivel bioquímico e histológico de branquias, hígado y riñones. En el hígado los hallazgos fueron: congestión sanguínea en los sinusoides, depósitos de hemosiderina, necrosis, atrofia y aumento del número de centros melanomacrófagos. La intensidad de estas alteraciones fueron dosis y tiempo dependientes, observándose los cambios más severos en las concentraciones más altas de malatión al final del experimento. En este estudio se demostraron los efectos dañinos de la exposición al malatión en el

esturión persa, una especie en peligro crítico, y útil como especie bioindicadora de la salud del ecosistema.

Rzepkowska et al. (2021) estudiaron los efectos hepatotóxicos de los fitoestrógenos dietarios en los esturiones rusos *Acipenser gueldenstaedtii* juveniles bajo condiciones de cultivo. Esta publicación evaluó la genotoxicidad de las dietas a base de porotos de soja en los eritrocitos y hepatocitos mediante alimentación de alevines durante 265 días. En este estudio se proporcionan imágenes de los hígados de los grupos de control, donde se ven hepatocitos con escasas alteraciones citoplasmáticas (Figura 7). Los resultados del nivel de genotoxicidad fueron comparados con la evaluación histopatológica donde se observaron a grandes rasgos cambios como esteatosis, hepatitis y vasodilatación en el tejido hepático de los esturiones que consumieron fitoestrógenos.

Koshelev & Ruban (2021) hacen una evaluación histopatológica de los tejidos musculares y hepáticos del esturión del Amur (*Acipenser schrenckii*) y del esturión Kaluga (*Huso dauricus*). Esturiones salvajes fueron capturados para la realización de este estudio, en el cual se constataron diversas alteraciones en diferentes grados que se atribuyen a la contaminación del agua. Las patologías más frecuentes fueron infiltrados inflamatorios (74.1% en kaluga y 80.8% en esturión del Amur), necrosis (74.1% en kaluga y 76.9% en esturión del Amur), fibrosis de las paredes vasculares (57.1% en kaluga y 57.7% en esturión del Amur), presencia de eosinófilos (38.5% en esturión del Amur), y “descomposición” de los cordones hepáticos (14% en kaluga y 26.9% en esturión del Amur).

Khorshidi & Keyvanshokoo (2024) investigan el efecto antioxidante del bisfenol A (BPA) y las alteraciones histológicas en el hígado de esturiones siberianos (*Acipenser baerii*) de criadero. Se expusieron a estos peces a diferentes dosis de BPA durante dos semanas, tras las cuales se analizaron las muestras de hígado. Los hallazgos revelaron cambios significativos en la estructura del hígado, como vacuolización de los hepatocitos, necrosis celular y “expansión” de los sinusoides, siendo estos efectos más pronunciados en las dosis más altas de BPA. Además, se observó un aumento en los niveles de marcadores de estrés oxidativo, lo que indica que el BPA provoca daños en el hígado de los esturiones siberianos y altera su capacidad antioxidante.

Los animales tenían un año de edad y se proporcionaron imágenes de los hígados de los grupos de control, donde se observan hepatocitos con degeneración vacuolar de base (Figura 6).

En resumen, es de destacar los grandes beneficios de utilizar a los esturiones como modelo de estudio debido a que son especies en peligro crítico, tienen un alto valor productivo, presentan ciclos de vida complejos y longevos que los convierten en bioindicadores ambientales, y son altamente susceptibles a diferentes contaminantes. El análisis histológico del hígado ha demostrado ser una herramienta eficaz para evaluar los factores ambientales y la salud de los individuos, proporcionando información clave sobre su estado sanitario. Además, se identificaron diferentes grados de alteraciones en individuos considerados sanos, tanto de poblaciones silvestres como de criaderos, lo que evidencia una amplia variabilidad en lo que se podría considerar normal en términos histológicos para estas especies.

FUNDAMENTACIÓN E HIPÓTESIS DEL PRESENTE TRABAJO DE TESIS

Por todo lo expuesto anteriormente, este estudio fundamenta la necesidad de evaluar el estado sanitario de los esturiones rusos (*Acipenser gueldenstaedtii*) criados en sistemas intensivos de producción en Uruguay, dada la relevancia económica de esta actividad para la producción nacional, mediante la herramienta de la histopatología y de la estandarización de las lesiones halladas, para lograr resultados comparables y reproducibles. Aunque los esturiones se han adaptado al cultivo en Uruguay, es ampliamente reconocido que las condiciones ambientales y productivas pueden predisponerlos al desarrollo de enfermedades. Esto subraya la importancia de monitorear su salud en momentos clave del sistema productivo, como la faena, que constituye una oportunidad única para recolectar tejidos cuya obtención en otros momentos implicaría el sacrificio de individuos y, por ende, grandes pérdidas económicas.

La histopatología es una herramienta fundamental para identificar cambios estructurales en los tejidos y establecer su correlación con estímulos nocivos. El hígado, como órgano diana de diferentes patologías y como órgano central en el metabolismo, resulta particularmente relevante para evaluar el impacto de las condiciones ambientales y productivas sobre la salud de los esturiones. Si bien se han propuesto varias metodologías para estandarizar los hallazgos histopatológicos de manera objetiva y reproducible, no existe un protocolo universalmente aceptado. Por ello, este estudio propone basarse en el sistema de Bernet et al. (1999), con el fin de establecer una metodología que permita generar datos comparables y aportar a estudios futuros.

El presente trabajo también surge a raíz de la constatación de diversas coloraciones observadas en los hígados de esturiones durante la faena. Nuestra hipótesis plantea que el grado de coloración del hígado está correlacionado con el daño hepático.

OBJETIVOS

Objetivo general

Estandarizar los grados de las lesiones hepáticas en hembras clínicamente sanas de una población productiva de esturiones rusos (*Acipenser gueldenstaedtii*) criados en un sistema productivo intensivo en Uruguay, utilizando los criterios de Bernet et al. (1999), para generar una herramienta diagnóstica objetiva y reproducible que permita evaluar la salud de éstos peces.

Objetivos específicos

Hacer una revisión bibliográfica exhaustiva sobre histología, lesiones hepáticas y antecedentes de otros estudios similares en el género *Acipenser*.

Caracterizar desde el punto de vista biométrico las hembras de esturión ruso durante su ciclo productivo.

Estandarizar técnicas de procesamiento histológico de tejido hepático de peces en el laboratorio de Patología de Facultad de Veterinaria, Udelar.

Diseñar tablas de evaluación individual de grados de lesiones hepáticas en base a los criterios de estandarización de lesiones propuesto por Bernet et al. (1999) que puedan servir de criterio para identificar y valorar fácilmente salud y enfermedad en hígado de *Acipenser gueldenstaedtii* en las condiciones productivas locales.

Correlacionar los hallazgos macroscópicos y microscópicos del hígado con la producción de caviar.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestreo de hígados durante la faena

Fue muestreado un lote de 25 esturiones hembra (*Acipenser gueldenstaedtii*), pertenecientes a la población en cultivo del criadero *Black River Caviar* ubicado en Baygorria, Durazno (georreferencia: 32°51'53.9"S 56°48'48.4"W). Se trataba de un grupo homogéneo de hembras adultas, clínicamente en apariencia sanas, en edad de faena (5 a 7 años), emparentadas entre sí, e identificadas individualmente por microchipeado.

Durante la faena, se realizó un registro individual de cada ejemplar, asignándole un número de identificación a cada muestra (ID). Se registraron las siguientes variables: masa corporal (kg), largo total (m), masa del hígado (g), masa de gónadas (g) y masa de membranas (g). Durante el muestreo del hígado se posicionó el órgano para inspección y toma de fotos, lo cual se hizo sobre su cara dorsal y luego sobre su cara ventral, permitiendo una observación completa de los lóbulos izquierdo y derecho.

La masa del caviar se obtuvo de la resta entre la masa de las gónadas y la masa de las membranas. Los datos de masa de gónadas, masa de membranas, masa de caviar y masa del hígado fueron relativizados en función de la masa corporal.

El índice de masa corporal (IMC) se calculó como la división entre la masa corporal (MC) en kilogramos y el cuadrado del largo total (LT) en metros.

Estudio macroscópico.

Se creó una escala visual de colores con un rango del 1 al 4, para representar las coloraciones hepáticas desde la más clara a la más oscura. Dicha coloración varió entre los sectores más craneales a los más caudales, por lo que el número asignado final resultó ser un promedio de ambos sectores.

Estudio histopatológico

Para el estudio histopatológico del hígado nos basamos en las recomendaciones de la ICES “*International Council of the Exploration of the Sea*” (Feist et al., 2004). Tomamos una muestra representativa de 0.5 cm de grosor sobre la longitud del eje axial del órgano en el sector más craneal (bloque A) y más caudal (bloque B), ya que los mismos solían presentar diferencias en la coloración. No se observaron lesiones macroscópicas externas, por lo que no se tomaron muestras adicionales para ningún ejemplar.

Los tejidos colectados se colocaron en *cassettes* histológicos identificados y se vertieron para su fijación en una solución de formalina tamponada (pH =7.4) al 10%. A las 24 horas se continuó con el procesamiento histológico convencional (inclusión en parafina, cortes a 5µm, levantado en portaobjetos, tinción con hematoxilina y eosina y montaje con cubreobjetos) para su posterior evaluación microscópica y registro fotográfico.

Protocolo de estandarización de lesiones histopatológicas

Para la estandarización de las lesiones histopatológicas nos basamos en el método de Bernet et al. (1999). Identificando los cinco principales patrones de reacción (*rp*):

- alteraciones circulatorias (*rp1*): edema intracelular (1), hemorragia (2), hiperemia (3) y aneurismas (4)
- alteraciones regresivas (*rp2*): alteraciones en la arquitectura y estructura (1), alteraciones plasmáticas (2), depósitos intracelulares (3), alteraciones nucleares (4), atrofia (5) y necrosis (6)
- alteraciones progresivas (*rp3*): hipertrofia (1) e hiperplasia (2)
- inflamación (*rp4*): exudativa (1), activación del sistema reticuloendotelial (2) e infiltración (3)
- tumores (*rp5*): benigno (1) y maligno (2)

Además, a cada alteración se le asignó un valor o *score* (a) de 0 a 6, indicando el grado de extensión de la lesión; siendo 0 sin cambios, 2 con cambios mínimos, 4 con cambios moderados y 6 con cambios severos (difusos); los valores 1, 3 y 5 se usaron

como valores intermedios entre las categorías anteriores. Cabe mencionar que los cambios regresivos y progresivos se describieron por separado tanto en el tejido hepático, el tejido intersticial y los ductos biliares.

Por otra parte, Bernet et al. (1999) asignan un factor de importancia (w) con tres niveles teniendo en cuenta las siguientes consideraciones:

- nivel 1: importancia patológica mínima, la lesión es fácilmente reversible una vez la injuria cesa
- nivel 2: importancia patológica moderada, la lesión es reversible en la mayoría de los casos si el estresor es neutralizado
- nivel 3: importancia patológica marcada, la lesión es generalmente irreversible, con pérdida parcial o total de la estructura tisular normal y la funcionalidad del órgano.

Usando los valores de *score* (a) y factores de importancia (w) ya previamente definidos por el autor de éste sistema, se determinó el Índice de órgano (I_{org}) para las principales lesiones identificadas. Dicho índice representó el grado de daño de un órgano y permitió la comparación entre individuos. El mismo se calculó como la sumatoria del producto entre a y w para todos los cambios hallados en un órgano. Un I_{org} elevado indica un alto grado de daño en el órgano analizado.

$$I_{org} = \sum (a_i \times w_i)$$

Criterios para la asignación de score para activación del sistema retículo endotelial (ASRE)

Para calcularlo medimos el radio de 5 centros de melanomacrófagos rodeando una estructura a lo largo de toda la lámina (Figura 8) y el promedio de centros de melanomacróforos de más de 30 μm en 3 campos de 10 x (Figura 9). Entonces, el grado de ASRE se calculó como el producto del promedio del radio de los centros de melanomacróforos por la cantidad de centros de melanomacróforos de más de 30 μm en 3 campos de 10 x.

$$ASRE = \text{prom. radio centros} \times \text{prom. de la cantidad de centros de más de } 30 \mu\text{m}$$

Para trasladar el valor del ASRE calculado a una escala de score con categorías del 0 al 6, fue necesario tomar otra variable conocida. Como el color de los hígados está influenciado por los pigmentos que posee (principalmente melanina), se elaboró una tabla con los valores máximos, mínimos y promedio del ASRE calculado para cada tonalidad de color. De esta forma, obtuvimos categorías claras para asignarle un score de ASRE a cada tejido en función del valor de ASRE calculado.

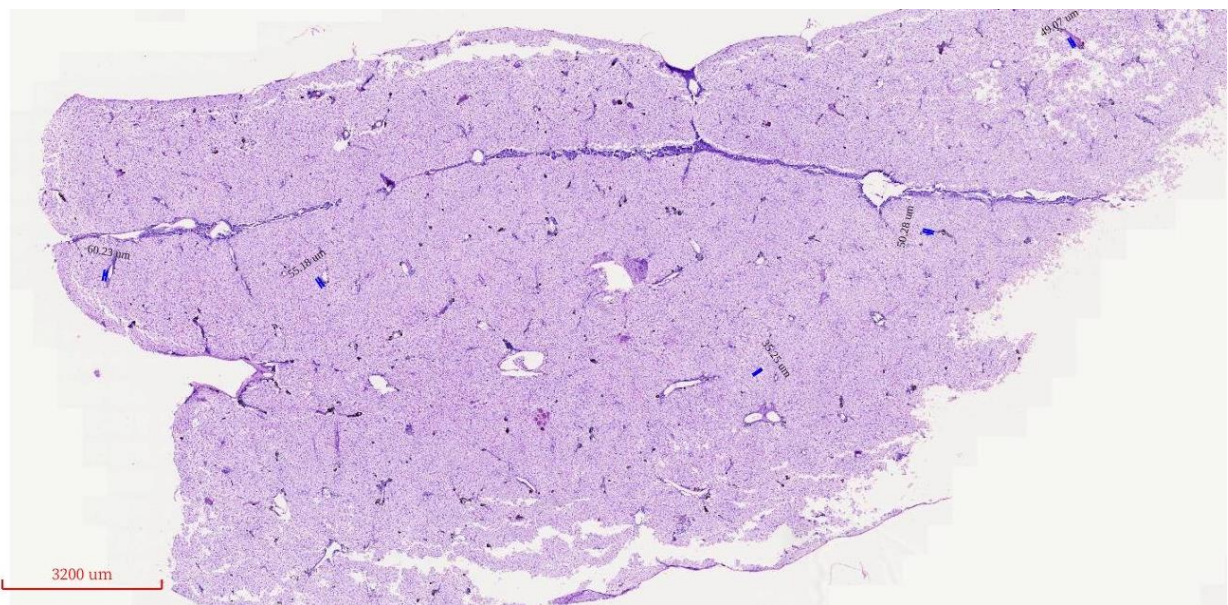


Figura 8. Cálculo en azul del radio de 5 centros de melanomacrófagos rodeando una estructura a lo largo de toda la lámina del bloque 24 B (Tinción HE, vista panorámica a 0.55 x).

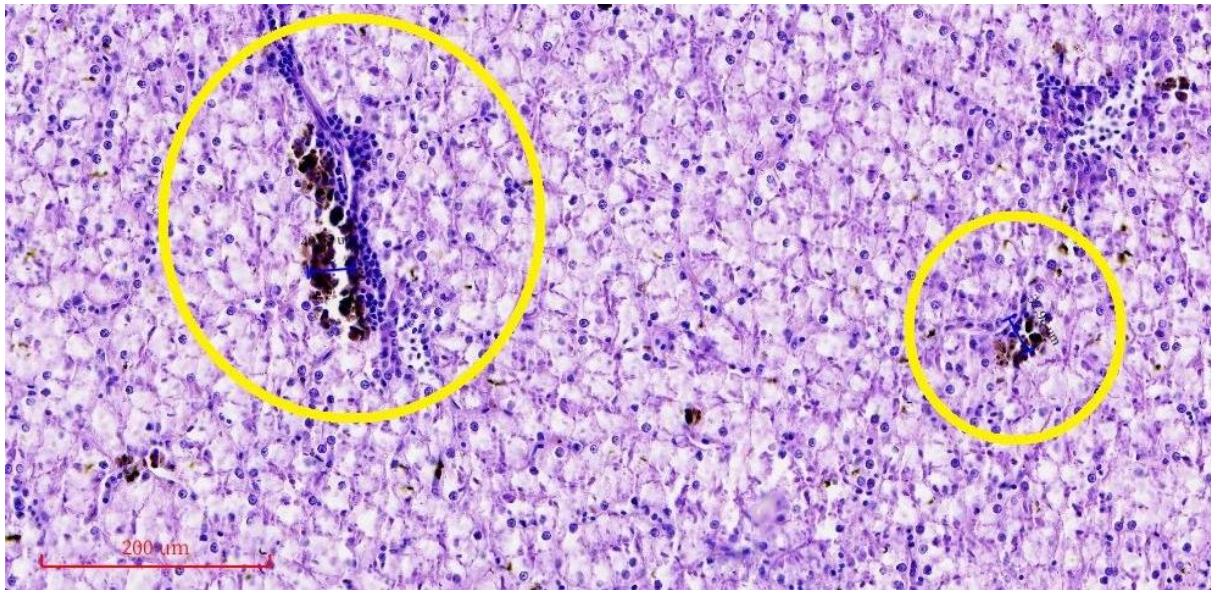


Figura 9. Los círculos amarillos señalan centros de melanomacrófagos de más de 30 μm en un campo de 10 x. Bloque 24 A (Tinción HE, 10 x).

Análisis estadístico de los resultados

Se realizó la prueba de Shapiro Wilk para determinar la normalidad de las variables. Presentaron un comportamiento normal: el índice de MC, masa relativa de las membranas, color, SRE, fibrosis, masa de hígado, masa relativa de caviar, masa de gónadas, índice hepato-gonadal, índice de daño, alteraciones plasmáticas, infiltración. Presentaron comportamiento no paramétrico: masa relativa de las membranas y el índice hepato-somático. Se determinó el grado de asociación entre variables paramétricas mediante el empleo de los coeficientes de correlación de Pearson y de Spearman para no paramétricos. Se considerará diferencia significativa cuando $p < 0.05$. Para estos cálculos se empleó el software Statistics/Data analysis ®.

RESULTADOS

Registros individuales

Se analizó un total de 25 esturiones rusos (*Acipenser gueldenstaedtii*) de los que se obtuvo el N° de trazabilidad (N°), largo total en metros (LT), masa corporal en kilos (MC), índice de masa corporal (IMC), masa relativa de gónadas en gramos (MRG), masa relativa de membranas en gramos (MRM), masa relativo del caviar en gramos (MRC), masa relativo del hígado en gramos (MRH) y color. Los datos de cada hembra se presentan en la Tabla 1.

Con respecto a la escala de colores, el color más claro fue un color crema (1), seguido de un mostaza (2), luego verde oliva oscuro (3) y el más oscuro de coloración negra (4) (Figura 10).

Tabla 1. Se muestran: número de identificación (ID), número de trazabilidad (N°), largo total (LT), masa corporal (MC), índice de masa corporal (IMC), masa relativa de gónadas (MRG), masa relativa de membranas (MRM), masa relativa del caviar (MRC), masa relativa del hígado (MRH) y color.

ID	N°	LT (m)	MC (kg)	IMC	MRG (g)	MRM (g)	MRC (g)	MRH (g)	Color
1	141003	1.14	8.3	6.39	0.17	0.02	0.15	0.01	4
2	140211	1.32	11.1	6.37	0.18	0.02	0.16	0.02	1
3	140524	1.23	14.35	9.49	0.17	0.02	0.16	0.01	3
4	142305	1.15	8.75	6.62	0.18	0.02	0.17	0.01	4
5	141472	1.36	13.3	7.19	0.12	0.02	0.1	0.02	1
6	140786	1.16	12.95	9.62	0.19	0.02	0.17	0.01	3
7	140510	1.34	11.85	6.6	0.18	0.02	0.16	0.01	1
8	141276	1.26	9.1	5.73	0.17	0.02	0.15	0.02	3
9	141887	1.31	8.0	4.66	0.17	0.02	0.15	0.02	1
10	140435	1.0	7.9	7.9	0.16	0.02	0.14	0.01	4
11	142281	1.37	11.4	6.07	0.15	0.03	0.13	0.01	2
12	142296	1.26	13.75	8.66	0.12	0.01	0.11	0.02	2
13	143535	1.23	14.6	9.65	0.17	0.02	0.15	0.01	4
14	141712	1.3	13.4	7.93	0.19	0.02	0.17	0.02	2
15	142286	1.25	8.45	5.41	0.17	0.02	0.15	0.02	4
16	140603	1.24	14.3	9.3	0.18	0.02	0.16	0.01	4
17	141191	1.32	11.7	6.71	0.16	0.02	0.15	0.02	3
18	140214	1.16	14.2	10.55	0.2	0.02	0.18	0.01	4
19	140159	1.18	12.85	9.23	0.16	0.02	0.14	0.01	3
20	141192	1.31	7.1	4.14	0.15	0.02	0.13	0.03	1
21	140601	1.2	13.6	9.44	0.16	0.02	0.14	0.01	3
22	141784	1.19	14.05	9.92	0.16	0.02	0.14	0.01	4
23	140527	1.29	12.95	7.78	0.2	0.02	0.18	0.01	4
24	141174	1.33	10.35	5.85	0.21	0.02	0.2	0.02	1
25	141993	1.4	15.95	8.14	0.18	0.07	0.11	0.01	2

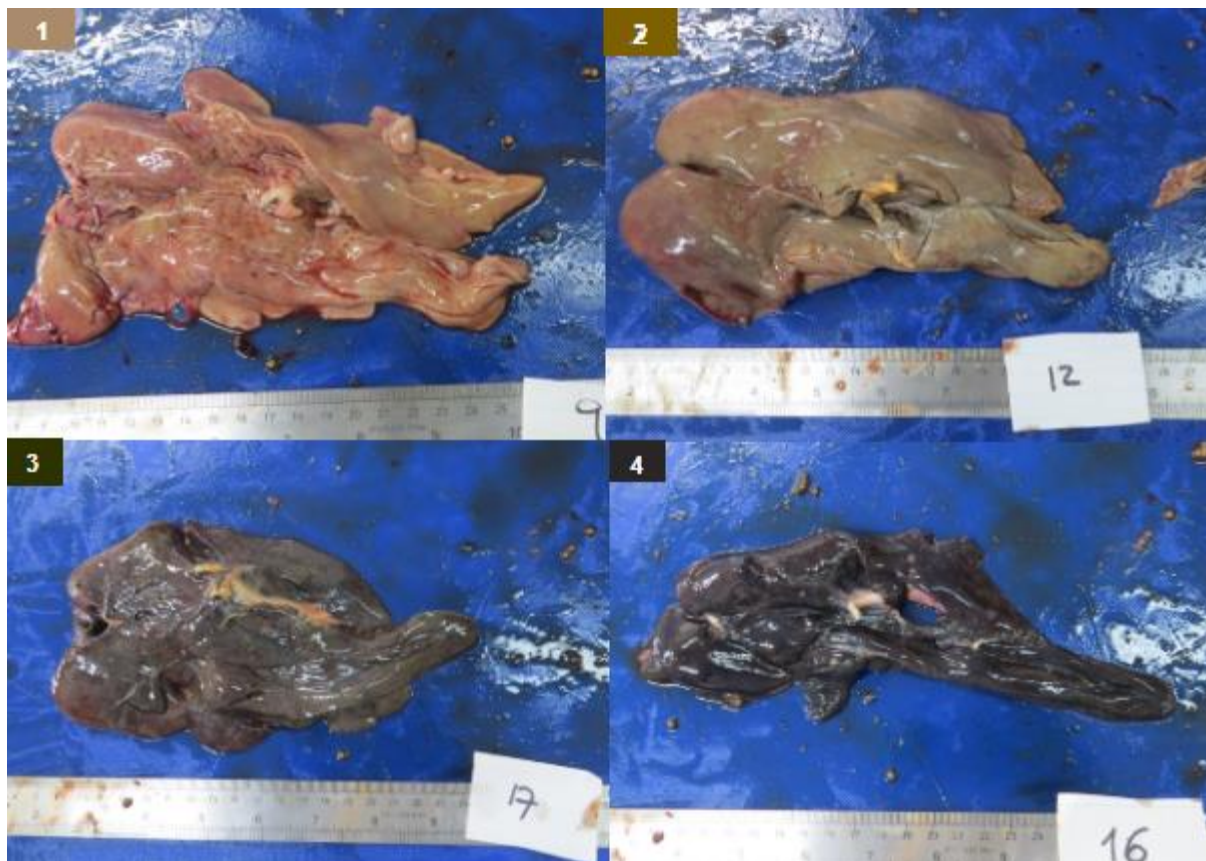


Figura 10. Coloraciones de hígados. Coloración 1 en ID 9; Coloración 2 en ID 12; coloración 3 en ID 17; Coloración 4 en ID 16.

Identificación de las principales alteraciones

Se obtuvo un total de 49 bloques de hígados, 25 de bloques “A” y 24 de bloques “B”. El bloque 6 B fue descartado ya que por error se colectó una muestra de tejido esplénico. Se le asignó un score solamente a las alteraciones identificadas con mayor frecuencia, las cuales fueron:

- alteraciones circulatorias (rp1): hiperemia y hemorragias leves. En todas las muestras, próximo a la superficie capsular, podía verse una distensión de sinusoides repleta de eritrocitos (Figura 11). De acuerdo con nuestra revisión bibliográfica, es probable que éste hallazgo estuviese relacionado con el sacrificio y manipulación de los tejidos. Por lo tanto, el score para éste ítem fue de 2 para todas las láminas y 4 para la lámina 18 B que presentó hemorragias leves multifocales, las mismas se muestran en la Figura 12.

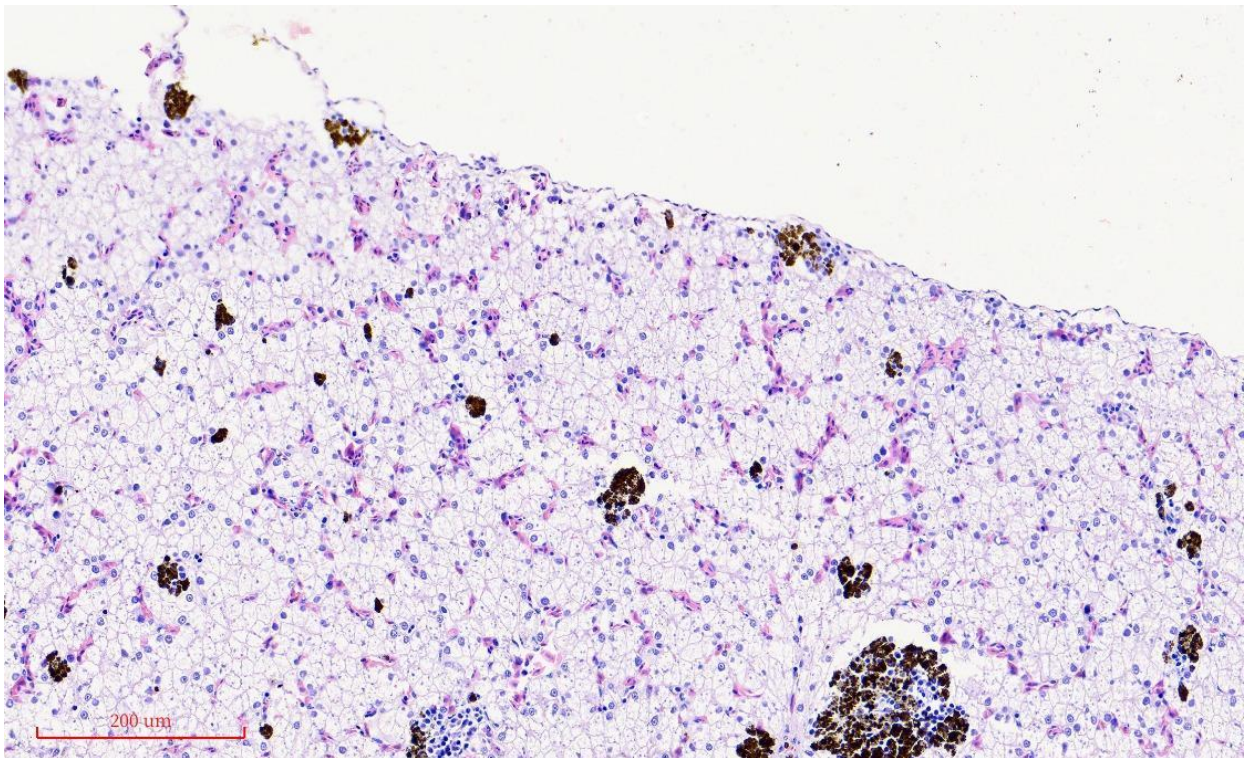


Figura 11. Hiperemia subcapsular en bloque 3 A. Nótese los sinusoides detenidos debido al contenido de eritrocitos (Tinción HE, 10 x).

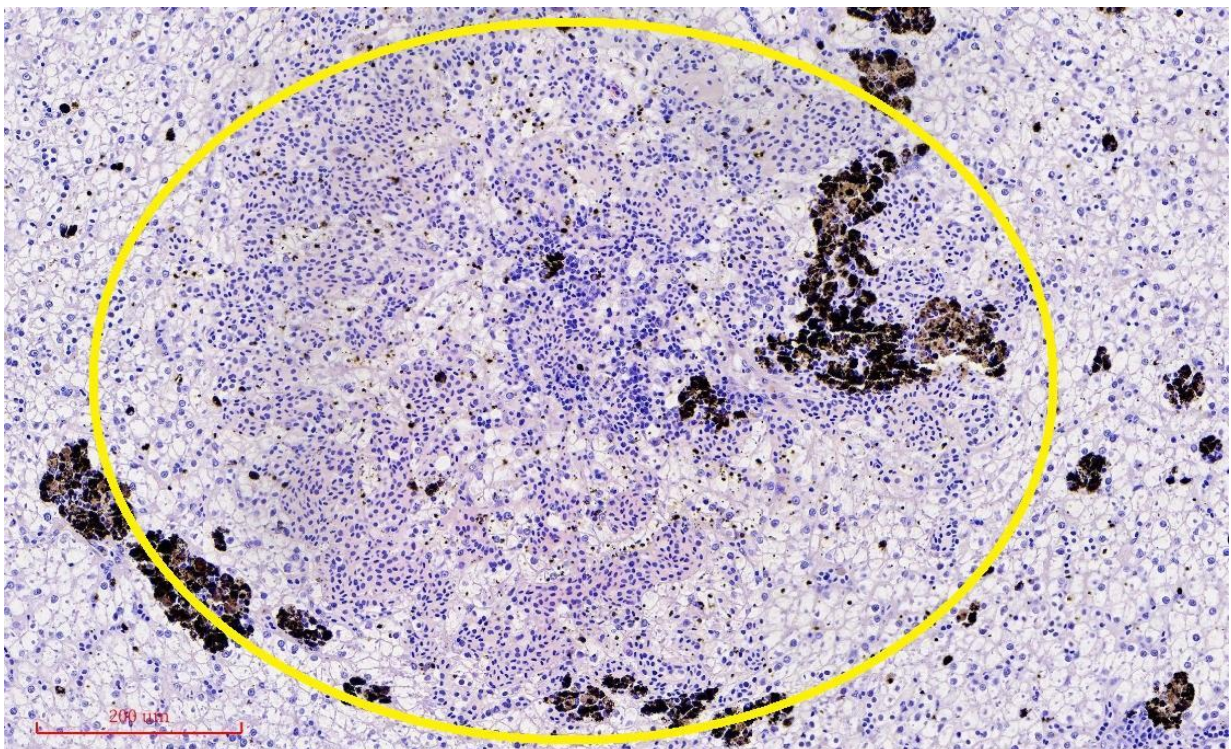


Figura 12. El círculo amarillo punteado indica una hemorragia focal en el bloque 18 B (Tinción HE, 10 x).

- alteraciones regresivas (rp2): alteraciones en la arquitectura y estructura del tejido intersticial, alteraciones plasmáticas hepáticas y depósitos intracelulares hepáticos.

Con respecto a las alteraciones en la arquitectura y estructura del tejido intersticial, un hallazgo frecuente fue la fibrosis periportal. Los hígados presentaron diferentes grados de fibrosis que oscilaron entre 0 y 4. Hubo hígados sin fibrosis a los que se les asignó un score de 0 (Figura 13), con fibrosis leve o score 2 (Figura 14) y fibrosis moderada o score 4 (Figura 15).

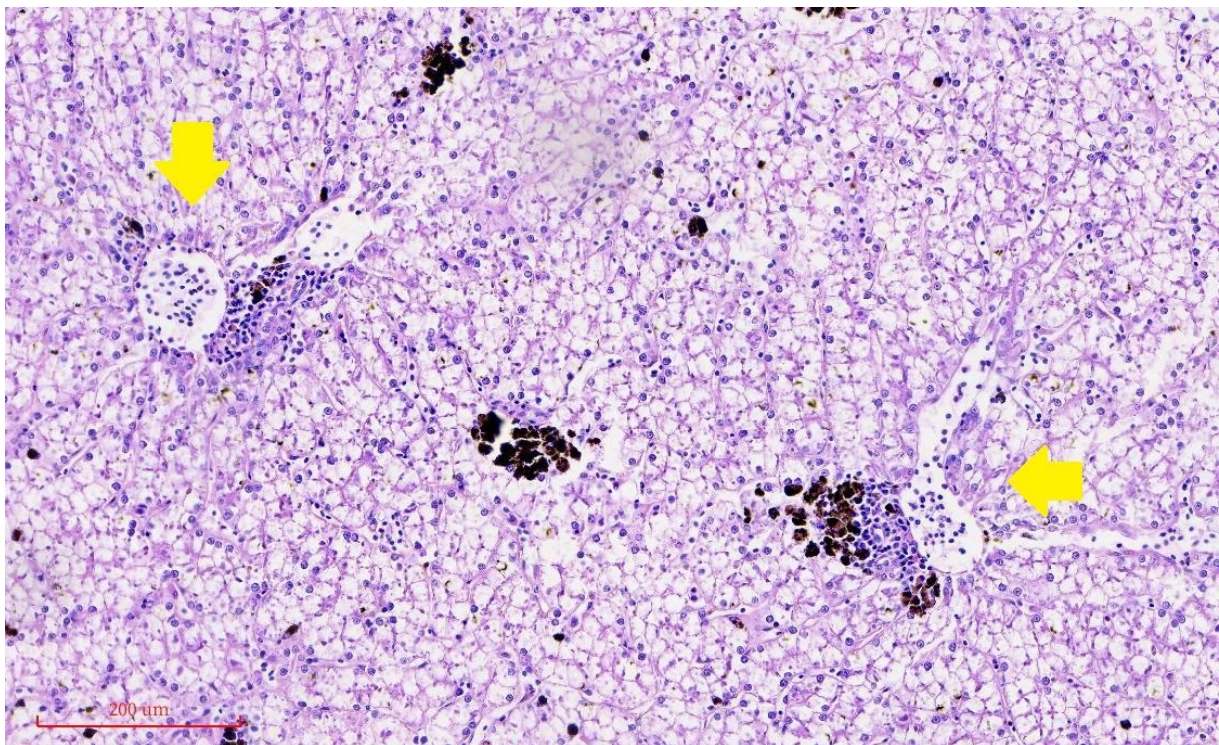


Figura 13. Score de fibrosis 0 en bloque 21 A. Se indica con flechas amarillas las díadas y tríadas (Tinción HE, 10 x).

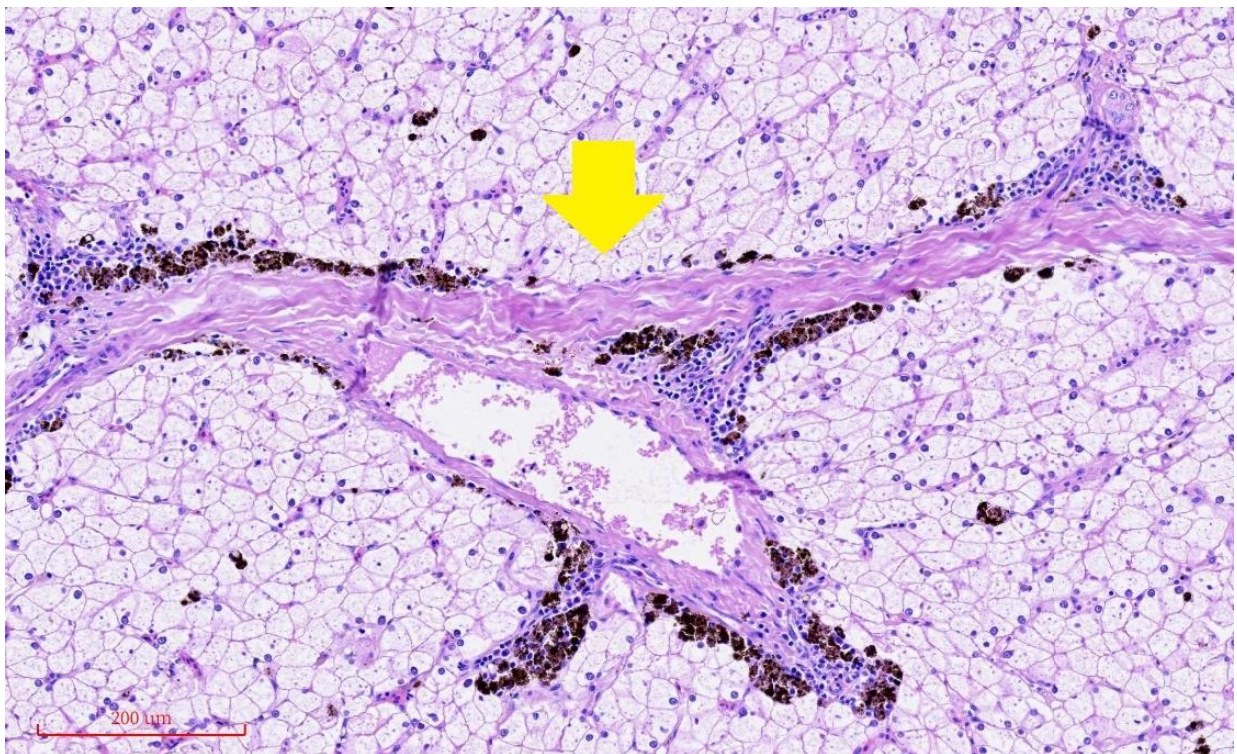


Figura 14. Score 2 de fibrosis 2 en bloque 12 A. La flecha amarilla indica la zona fibrosada (Tinción HE, 10 x).

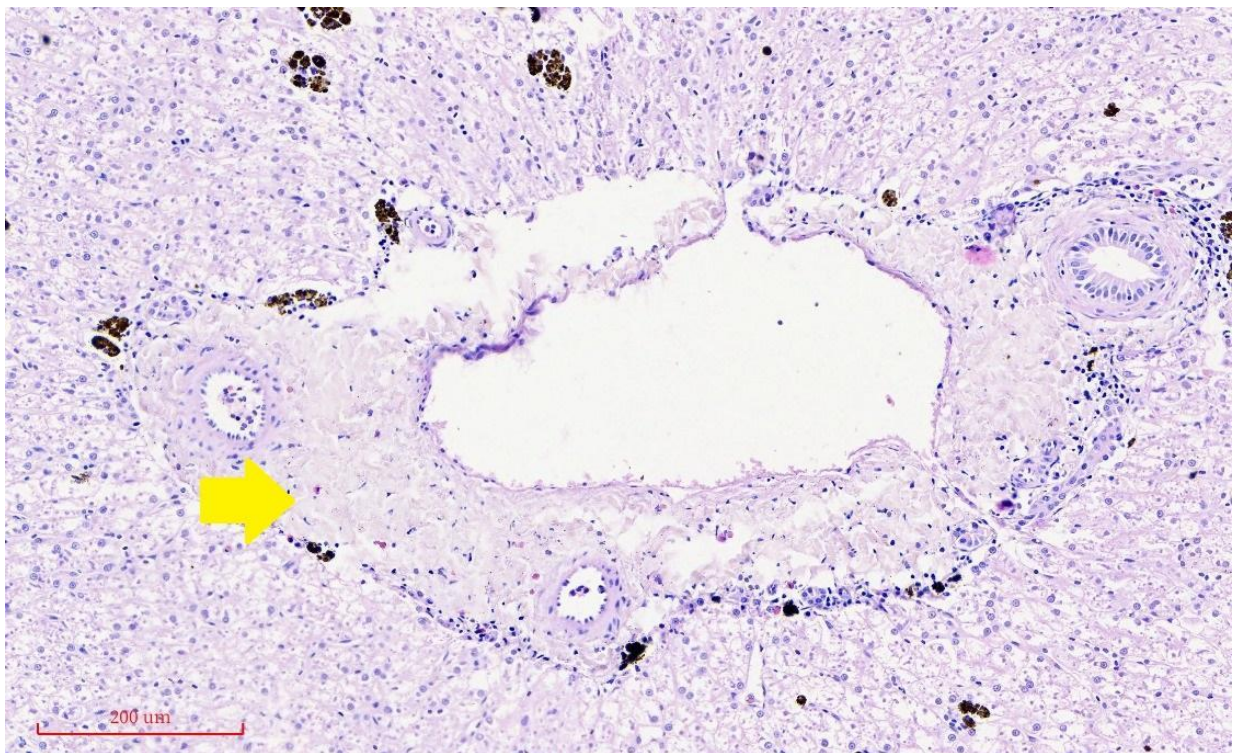


Figura 15. Score de fibrosis 4 en bloque 1 A (Tinción HE, 10 x).

También se identificaron grandes alteraciones plasmáticas, compuestas por un infiltrado del tipo lipídico. En base al grupo control de Rzepkowska et al., (2021) y a la imagen proporcionada por Wolf et al., (2015), establecimos que los hígados del score 0 no tendrían grado de infiltración alguno (Figura 7), mientras que un grado 4 moderado (Figura 16) implicaría una gran infiltración sin desplazamiento nuclear, y un grado de infiltración de 6 implicaría un desplazamiento nuclear (Figura 17).

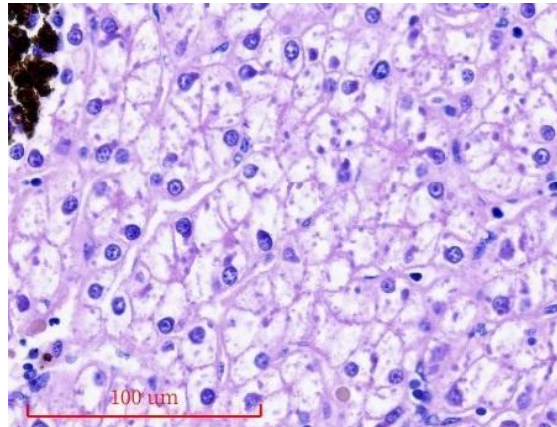


Figura 16. Score 4 de alteraciones citoplasmáticas en bloque 4 A (Tinción HE, 20 x).

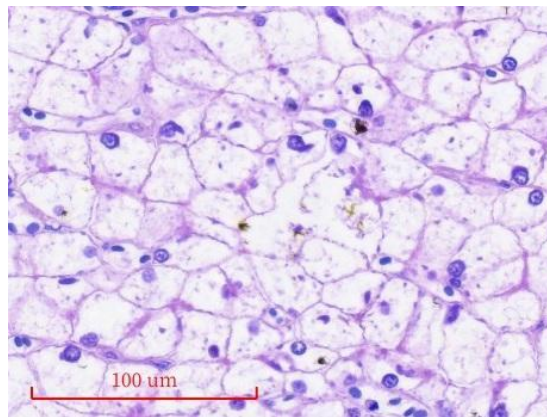


Figura 17. Score 6 de alteraciones citoplasmáticas en bloque 12 A, donde se puede observar un gran desplazamiento nuclear (Tinción HE, 20 x).

El grado de depósitos intracelulares fue el mismo para todos los tejidos (Figura 16 y 17), a no ser por el 19 A que presentaba un aumento leve (Figura 18).

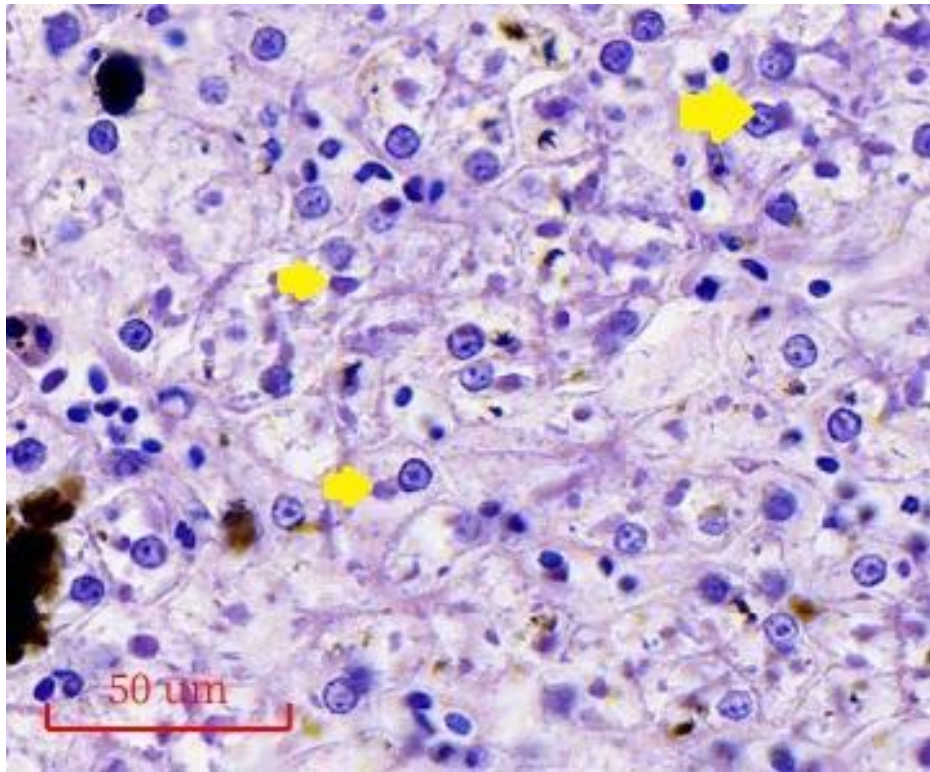


Figura 18. Hígado 19 A con un aumento de depósitos intracelulares, se indican algunos de ellos con las flechas amarillas (Tinción HE, 20 x)

- alteraciones progresivas (rp3): hipertrofia e hiperplasia de ductos biliares.

Se encontró asociada a la fibrosis periportal y de forma aislada, observándose ductos biliares hipertróficos (Figura 19) o cubiertos por un epitelio estratificado (Figura 20).

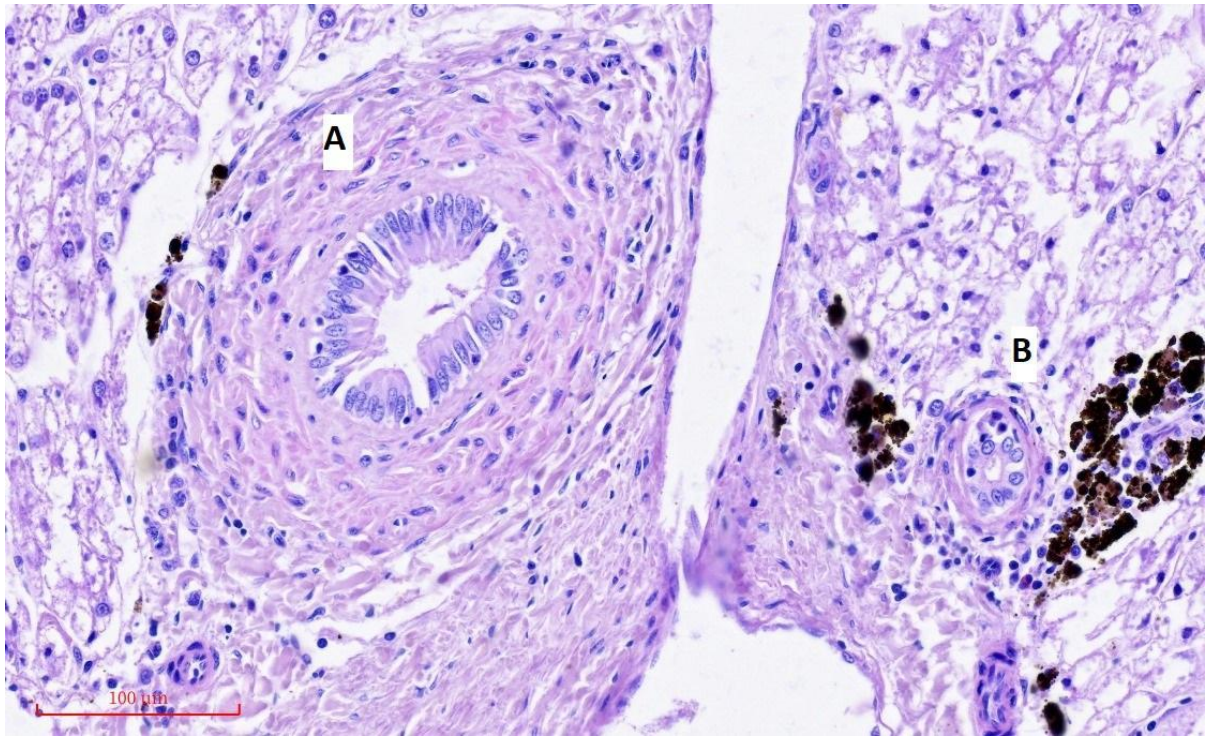


Figura 19. A. Hipertrofia ductal en bloque 4 A. B. Puede verse un ducto de tamaño más pequeño de apariencia normal a la derecha (Tinción HE, 20 x).

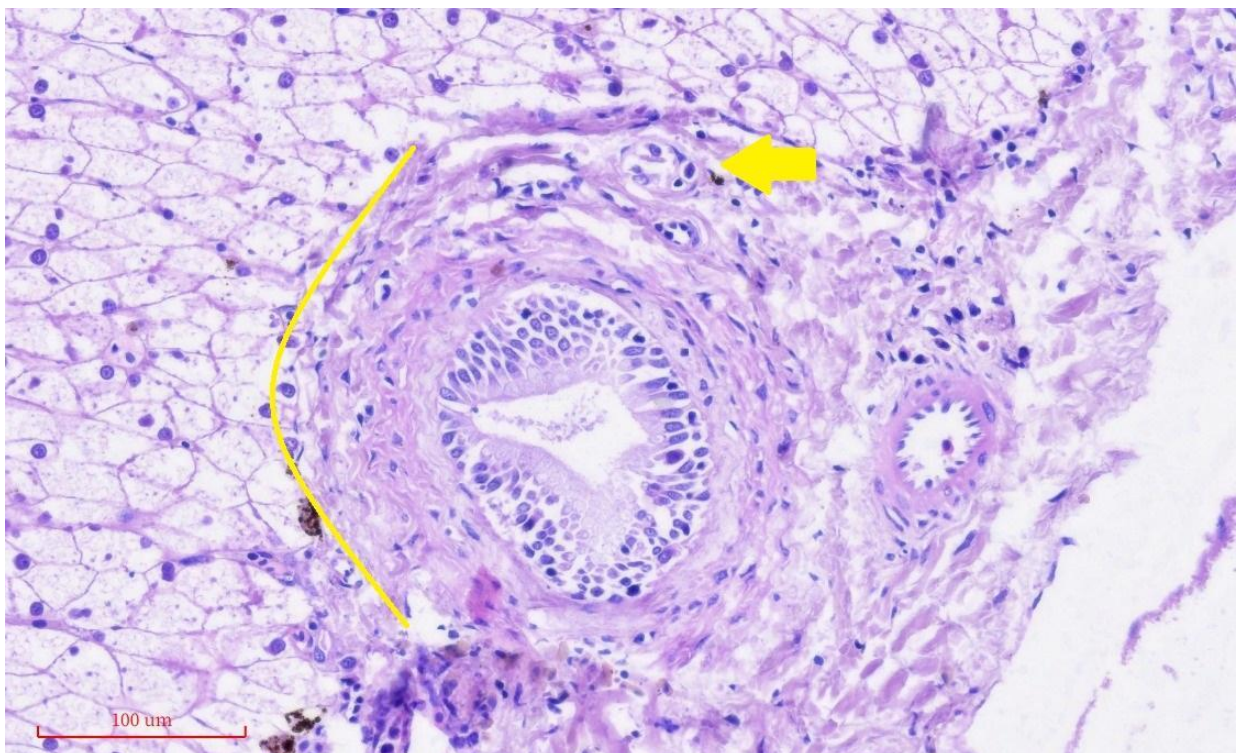


Figura 20. Hiperplasia ductal en bloque 12 A. La flecha amarilla indica nuevos ductos proliferando alrededor de un gran ducto revestido por un epitelio estratificado (llave amarilla) (Tinción HE, 20 x).

- inflamación (rp4): activación del sistema reticuloendotelial (2) e infiltración inflamatoria (3)

En esta categoría lo más llamativo fue la proliferación de los centros de melanomacrófagos (2), que se corresponden con el grado de ASRE. Hígados más oscuros presentaron centros más desarrollados y en más cantidad (Figura 21). Esto también puede demostrarse con las categorías tan claras por cada score de ASRE en función del color (Tabla 2).

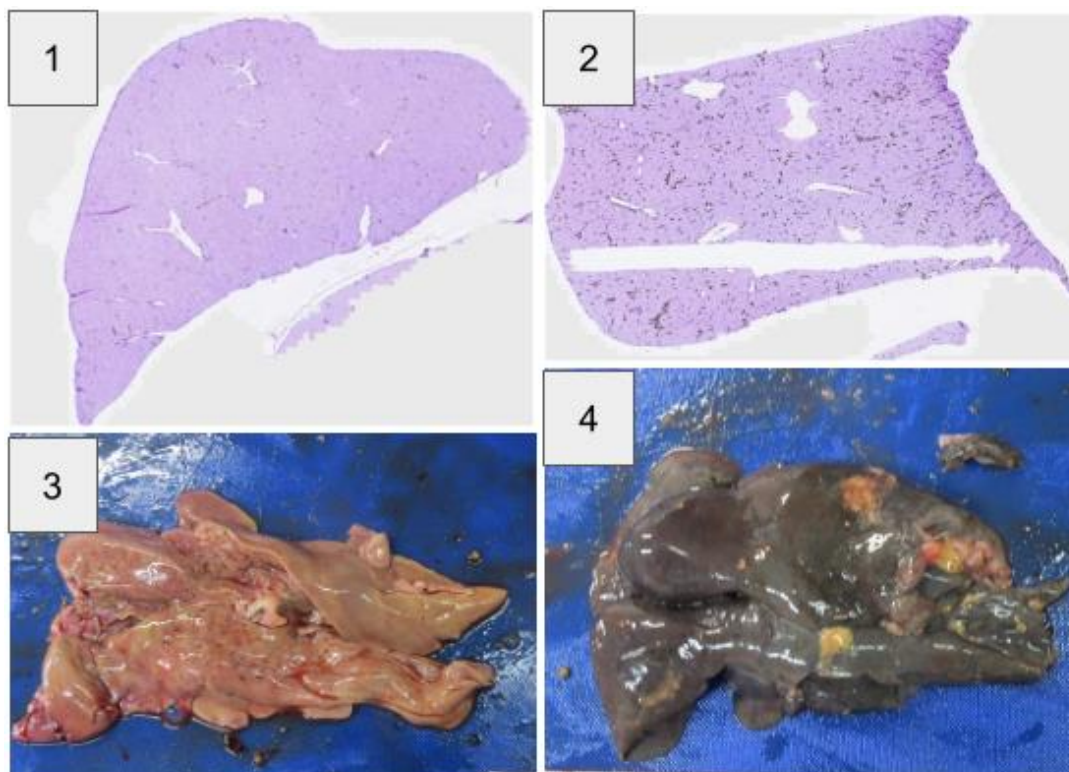


Figura 21. Los números 1 y 3 muestran el corte histológico y la macroscopía del hígado 9 (color 1) . Los números 2 y 4 muestran el corte histológico y la macroscopía del hígado (color 4) (Tinción HE, vista panorámica).

Tabla 2. El color con sus valores máximos, mínimos y promedios de grado de ASRE, con el valor de score correspondiente para cada categoría.

COLOR	MIN	MAX	PROM	ACT SRE
1	96	384	240	2
2	158	559	358,5	3-4
3	500	956	728	4-5
4	866	1952	1409	6

El grado de infiltración (3) hace referencia a los leucocitos penetrando las paredes vasculares e infiltrando los tejidos circundantes. Generalmente se lo veía asociado al ítem anterior, por lo que poseían valores muy similares.

En la tabla 3 se presentan los valores del I_{org} (promedio del valor determinado para ambos bloques de cada órgano) de cada individuo.

Tabla 3. Valores finales compuestos por el promedio de cada bloque A y B de cada hígado.

ID	Alt. circulatorias (w=1)	Depósitos intracelulares (w=1)	Alt. plasm. hep. (w=1)	Hipertrofia ductal (w=1)	Hiperplasia ductal (w=2)	Fibrosis (w=1)	ASRE (w=1)	Infiltración (w=2)	<i>Iorg</i>
1	2	4	4	1	2.5	3	6	5	35
2	2	2	6	2	3	2	3	2	27
3	2	2	4	2	3	0	5	5	31
4	2	2	4	2	2	3	6	6	35
5	2	2	5.5	2.5	1	1	2	2	21
6	2	2	5	2	0	2	4	4	25
7	2	2	6	1	1	4	3	4	28
8	2	2	4	2	2	2.5	5	4	29.5
9	2	2	5	2	0	2	2	2.5	20
10	2	2	4	3	3	3	6	6	38
11	2	2	6	0	1	2	2	2	20
12	2	2	6	2	2	2	2	3	26
13	2	2	6	2	2	3.5	5.5	4	33
14	2	2	6	0	0	4	2.5	3	22.5
15	2	2	4	4	2	3	6	5	35
16	2	2	5.5	0	1	4	6	5.5	32.5
17	2	2	6	1	0	4	4	4	27
18	3	2	6	1	1	2	6	6	34
19	2	2.5	4	1	0	2.5	4.5	5	26.5
20	2	2	6	2	1	2	2	2	22
21	2	2	6	2	1	1	4	5	29
22	2	2	4	3	1	2	6	5.5	32
23	2	2	4	1	0	2	5	4	24
24	2	2	6	0	0	2	2	2	18
25	2	2	5	2	1	4	2.5	3	25.5

La coloración hepática presentó una correlación alta con el índice de daño hepático ($r=0.7926$; $p=0.0000$) y una fuerte correlación con el grado de activación del SRE ($r=0.9316$; $p=0.0000$) y con el grado de infiltración ($r=0.8614$; $p=0.0000$).

El índice de daño hepático presentó una correlación fuerte tanto con el grado de infiltración ($r=0.8674$; $p=0.0000$) como con la activación del SRE ($r=0.8911$; $p=0.0000$).

A su vez, el índice hepatosomático presentó una correlación negativa con el grado de infiltración ($r= -0.71$; $p=0.0001$), color ($r= -0.67$; $p=0.0002$), y activación del SER ($r= -0.66$; $p=0.003$).

Es importante destacar que no se encontraron correlaciones entre las distintas lesiones y la masa relativa del caviar, así como con el índice de daño hepático, ni con el color.

DISCUSIÓN

Las lesiones descritas en el presente trabajo no difirieron de las que ya se han reportaron en otras especies del género *Acipenser* tanto silvestres como de cautiverio (Khorshidi & Keyvanshokoo, 2024; Koshelev & Ruban, 2021; Kruse et al., 2002; Lee et al., 2012; Poleksic & Lenhardt, 2010; Rahbar, 2020; Rzepkowska et al., 2021). Hemos podido identificar y estandarizar en base a los criterios de Bernet et. al. (1999) alteraciones circulatorias, alteraciones citoplasmáticas (infiltración de tipo graso), depósitos intracelulares, alteraciones de la arquitectura (fibrosis), hipertrofia e hiperplasia ductal, activación del sistema retículo endotelial (ASRE) e infiltración inflamatoria. Estas alteraciones son compatibles con un proceso inflamatorio crónico o colangiohepatitis crónica.

Kruse et al. (2002) identificaron infiltración de tipo grasa, infiltración linfocitaria y centros de melanomacrófagos en esturiones blancos (*Acipenser transmontanus*) silvestres, juveniles y adultos, correlacionándolo con la exposición a contaminantes ambientales. Poleksic & Lenhardt (2010) observaron en su muestreo de esturiones silvestres de más de 2 años de edad, de la especie *Acipenser ruthenus* que la principal lesión era fibrosis 77.5%, seguido por una infiltración focal de leucocitos en el 52.5% y centros de melanomacrófagos en 30%, la mayor prevalencia de lesiones fue asociada a los sitios con mayor contaminación por metales. Koshelev & Ruban (2021) también identificó que las lesiones más prevalentes en especies silvestres de esturión de Amur (*Acipenser schrenckii*) y del esturión Kaluga (*Huso dauricus*) eran los infiltrados inflamatorios, seguido de fibrosis de paredes vasculares,

Por otro lado, en estudios experimentales se han observado lesiones similares como respuesta a exposición a tóxicos. Lee et al. (2012) describieron un aumento de la degeneración vacuolar (infiltración de tipo grasa) en juveniles de *Acipenser medirostris* y *Acipenser transmontanus* expuestos a diferentes niveles de metilmercurio dietario. De manera similar, Rahbar (2020) reportó un aumento de los centros de melanomacrófagos en alevines de esturiones persas (*Acipenser persicus*) expuestos a malatión.

Rzepkowska et al. (2021) en el contexto de los sistemas productivos, observó esteatosis, hepatitis y vasodilatación en esturiones juveniles de *Acipenser gueldenstaedtii* alimentados con dietas ricas en fitoestrógenos. Khorshidi & Keyvanshokoo (2024) identificó que esturiones siberianos (*Acipenser baerii*) de criadero expuestos a diferentes niveles de bisfenol A, presentan como lesión principal vacuolización de los hepatocitos (infiltración de tipo grasa).

En definitiva, nos encontramos ante animales que presentaron lesiones similares a las encontradas en animales silvestres de regiones con altas cargas de contaminantes o en ensayos experimentales con animales de cautiverio. Por lo tanto, es razonable pensar que las condiciones ambientales podrían tener un rol central, siendo que el agua utilizada en ésta piscicultura presenta un grado medio de eutrofización (Guerrini, 2017). También las condiciones de manejo como densidad poblacional y tipo de alimento podrían estar contribuyendo a estas alteraciones. El momento reproductivo de los animales también podría tener un rol central en la manifestación de estas alteraciones, quizá no siendo parte de un proceso patológico establecido, sino de los cambios metabólicos sufridos por las hembras durante el proceso de formación del caviar.

La coloración hepática y el índice de daño presentaron una correlación alta. También vimos que el índice de daño hepático presentó una correlación fuerte tanto con el grado de infiltración, como con el grado de activación del SRE, lo cual indicaría que el daño estuvo fuertemente relacionado con un proceso inflamatorio, en este caso una colangiohepatitis. Pero esto no tendría una correlación con la producción de caviar.

Según Roberts, R. J. (2012) los centros de melanomacrófagos (activación del SRE) aparecen cuando los peces almacenan lípidos en el hígado, pero también pueden aparecer ante situaciones de tóxicos o déficit vitamínicos. Myers et al. (1998) remarca que el riesgo de enfermedad hepática aumenta con la edad, por lo que siendo hembras de esturiones en el presente caso de estudio de entre cinco y siete años serían lesiones dentro de todo “esperables”.

Finalmente, con respecto a los acúmulos intracelulares, como los animales se encontraban en fase reproductiva, se consideró que se trataba de un hallazgo normal,

por lo que se entendió que simplemente se trataba de vitelogenina (proteína de síntesis hepática precursora del vitelo ovocitario) (Wolf et al. 2015).

Estos resultados dan pie a futuras investigaciones para esclarecer las complejas dinámicas que afectan a los esturiones de los sistemas productivos en Uruguay. Pudimos establecer un diagnóstico morfológico sobre los hígados estudiados, sin embargo, serán necesarios otros estudios experimentales para poder identificar con mayor precisión la o las causas etiológicas de estas alteraciones.

CONCLUSIONES

De la presente investigación es posible concluir que:

- El color de los hígados sería un buen indicador del índice de daño hepatocelular, siempre y cuando la patología sea de naturaleza inflamatoria y crónica
- Todos los hígados en mayor o menor medida presentaron lesiones cuantificables.
- Las lesiones podrían estar influidas por el sistema productivo, las condiciones ambientales y el ciclo productivo de los peces.
- El índice de daño está fuertemente relacionado con una colangiohepatitis crónica.
- No existe correlación entre el daño hepático y la producción de caviar para las condiciones de este estudio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ali, M., Gholamhosseini, A., Banaee, M., & Nakhaee, P. (2020). Development of liver and pancreas in *Acipenser persicus*: A histological study. *Iranian Journal of Ichthyology*, 7(3), 249–257.
- Aydın, B. (2015). Effect of dietary fish meal replacement by poultry by-product meal on muscle fatty acid composition and liver histology of fry of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (Actinopterygii: Perciformes: Cichlidae). *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 45, 343–351.
<https://doi.org/10.3750/AIP2015.45.4.02>
- Bernet, D., Schmidt, H., Meier, W., Burkhardt-Holm, P., & Wahli, T. (1999). Histopathology in fish: Proposal for a protocol to assess aquatic pollution. *Journal of Fish Diseases*, 22(1), 25–34.
- Bruno, D., Noguera, P., & Poppe, T. (2013). *A Colour Atlas of Salmonid Diseases*. Springer. <https://doi.org/10.1007/978-94-007-2010-7>
- Castellano, M., Silva-Álvarez, V., Fernández-López, E., Marius, V., Conijeski, D., Villarino, A., & Ferreira, A. (2017). Russian sturgeon cultured in a subtropical climate shows weakened innate defences and a chronic stress response. *Fish & Shellfish Immunology*, 68, 443–451.
- Chebanov, M. S., & Galich, E. V. (2013). *Sturgeon hatchery manual*. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper, 558, 1–17.
- Chebanov, V. E., Galich, E. V., & Chmyr, A. V. (2004). Age at maturation and duration of successive cycles of gametogenesis in wild and farmed sturgeon breeders. En *Sturgeon hatchery manual* (p. 226). FAO.
- Feist, S., Lang, T., Stentiford, G., & Koehler, A. (2004). *Biological effects of contaminants: Use of liver pathology of the European flatfish dab (Limanda limanda) and flounder (Platichthys flesus) for monitoring*. ICES.

- Ferguson, H. W. (2006). *Systemic pathology of fish* (2nd ed.). Scotian Press.
- Froese, R., & Pauly, D. (Eds.). (2025). *FishBase* (Version 12/2025). <https://www.fishbase.org>
- Genten, F., Terwinghe, E., & Danguy, A. (2009). *Atlas of Fish Histology*. CRC Press.
- Guerrini, D. (2017). *Balance de nutrientes y eutrofización en ríos y embalses de la cuenca del Río Negro (Uruguay)* [Tesis de grado, Facultad de Ciencias, Universidad de la República]. Silo. <http://hdl.handle.net/20.500.12008/19136>
- Khorshidi, N. S., Salati, A. P., & Keyvanshokoo, S. (2024). The effect of bisphenol A on antioxidant defense and the structure and function of the liver of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*). *Microscopy Research and Technique*, 87(7), 1429–1435. <https://doi.org/10.1002/jemt.24527>
- Koshelev, N., & Ruban, G. I. (2021). Abnormalities of muscle and liver tissues structure in the Amur sturgeon *Acipenser schrenckii* and kaluga *Huso dauricus* (Acipenseridae). *Inland Water Biology*, 14(5), 606–614. <https://doi.org/10.1134/S199508>
- Kruse, G.O., & Scarnecchia, D.L. (2002). Assessment of bioaccumulated metal and organochlorine compounds in relation to physiological biomarkers in Kootenai River white sturgeon. *Journal of Applied Ichthyology*, 18, 430–438. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0426.2002.00381.x>
- Lee, J.-W., Kim, J.-W., De Riu, N., Moniello, G., & Hung, S. S. O. (2012). Histopathological alterations of juvenile green (*Acipenser medirostris*) and white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) exposed to graded levels of dietary methylmercury. *Aquatic Toxicology*, 109(1), 90–99. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2011.12.009>

- Myers, M. S., Johnson, L., & Harris, P. P. (2004). Toxicopathic hepatic lesions as biomarkers of chemical contaminant exposure and effects in marine bottomfish species. *Environmental Health Perspectives*, 112(5), 474–479. <https://doi.org/10.1289/ehp.6721>
- Office International des Epizooties. (2000). *Diagnostic manual for aquatic animal diseases* (3rd ed.). Office International des Epizooties.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2018). *El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2018: Cumplir los objetivos de desarrollo sostenible*. FAO.
- Ostrander, G.K. (2000). *The Laboratory Fish*. Academic Press.
- Perretta, A., Antunez, K., & Zunino, P. (2018). Phenotypic, molecular and pathological characterization of motile aeromonads isolated from diseased fishes cultured in Uruguay. *Journal of Fish Diseases*, 41, 1559–1569.
- Perretta, A., Antunez, K., & Zunino, P. (2019). Resistencia a los antimicrobianos en bacterias aeromonadales móviles aisladas de peces cultivados en Uruguay. *Veterinaria (Montevideo)*, 55(211-1), 4–8.
- Perretta, A., Letamendia, M., Carnevia, D., & Conijeski, D. (2009). Primera experiencia de infección experimental de esturión siberiano (*Acipenser baerii*) con *Streptococcus dysgalactiae*. *Boletín del Instituto de Investigaciones Pesqueras*, 27, 30–34.
- Poleksic, V., Lenhardt, M., Jaric, I., Djordjevic, D., Gacic, Z., Cvijanovic, G., & Raskovic, B. (2010). Liver, gills and skin histopathology and heavy metal content of the Danube sterlet (*Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758). *Journal of Aquatic Toxicology and Biomonitoring*, 10, 56–63.

- Rahbar, M. (2020). Biochemical and histopathological alterations in Persian sturgeon, *Acipenser persicus* exposed to malathion. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(16), 19855–19865. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08758-x>
- Rey, A. L., Asín, J., Ruiz Zarzuela, I., Luján, L., Iregui, C. A., & de Blas, I. (2020). A proposal of standardization for histopathological lesions to characterize fish diseases. *Reviews in Aquaculture*, 12(4), 2304–2315.
- Roberts, R. J. (2012). *Fish pathology* (4th ed.). Wiley-Blackwell.
- Rzepkowska, M., Kamaszewski, M., Ostaszewska, M., Piesik, D., & Olszewska, M. (2021). Hepatotoxic effect of dietary phytoestrogens on juvenile cultured Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*). *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 56(9), 724–734. <https://doi.org/10.1080/03601234.2021.1903112>
- Van Eenennaam, J., Chapman, F., & Jarvis, P. (2004). *Sturgeons and paddlefish of North America*. Springer.
- Weisel, G. F. (1979). Histology of the feeding and digestive organs of the shovelnose sturgeon (*Scaphirhynchus platyrhynchus*). *Copeia*, (3), 521–529. <https://doi.org/10.2307/1443233>
- Williot, P., Nonnotte, G., Vizziano, D., & Chebanov, M. (2018). *The Siberian Sturgeon (Acipenser baerii, Brandt, 1869): Volume 1 - Biology*. Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-61664-3>
- Wolf, J. C., Baumgartner, W. A., Blazer, V., Camus, A. C., Engelhardt, J. A., Fournie, J. W., Frasca, S. Jr., Groman, D. B., Kent, M. L., Khoo, L. H., Law, J. M., Lombardini, E. D., Ruehl-Fehlert, C., Segner, H. E., Smith, S. A., Spitsbergen, J. M., Weber, K., & Wolfe, M. J. (2015). Nonlesions, misdiagnoses, missed diagnoses, and other interpretive challenges in fish histopathology studies: A guide for investigators, authors, reviewers, and readers. *Toxicologic Pathology*, 43(3), 297–325. <https://doi.org/10.1177/0192623314540229>

