



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PISA  
FACOLTÀ DI MEDICINA VETERINARIA

---

Tesi di Laurea Magistrale in Medicina Veterinaria  
Anno Accademico 2006–2007

**Lavaggio broncoalveolare e  
tracheale come strumenti di  
diagnosi delle patologie delle  
vie aeree profonde nel cavallo  
atleta: recenti acquisizioni**

*Candidato:*

CRISTINA STEFANI

*Relatore:*

PROF. MICHELE CORAZZA

*Correlatore:*

DOTT.SSA MICAELA SGORBINI

*E Allah prese una manciata del vento del Sud, soffiò sul suo cuore e così  
creò il cavallo... Che può volare senza ali e conquistare senza spada.*

– Leggenda beduina

Alla mia famiglia

## RIASSUNTO

Le patologie delle basse vie aeree dopo quelle dell'apparato muscolo-scheletrico rappresentano la più importante causa di calo del rendimento nel cavallo atleta; esse determinano spesso l'interruzione degli allenamenti e, in alcuni casi, un prematuro ritiro dei soggetti colpiti dalle competizioni, con le gravi perdite economiche che ne conseguono.

Lo scopo del lavoro è riassumere quanto conosciuto e mostrare i risultati dell'esame citologico ottenuto dal lavaggio broncoalveolare (BAL) e tracheale (TW) di cavalli sportivi con scarso rendimento atletico.

Sono stati analizzati 48 BAL e TW effettuati su cavalli diversi per razza, sesso ed età. I cavalli sono stati sottoposti a visita clinica, esame ecografico delle pleure ed esame endoscopico dinamico. I campioni raccolti sono stati citocentrifugati, colorati con Diff-Quick<sup>®</sup>, Blu di Prussia e Blu di Toluidina, quindi è stata eseguita un'analisi qualitativa. Sono state contate 400 cellule e ottenute le percentuali di macrofagi, linfociti, neutrofilo, eosinofili e mastociti; è stata eseguita una valutazione della percentuale di emosiderofagi sul totale della popolazione macrofagica. La IAD è stata diagnosticata nel 62,5% dei casi, la RAO nel 18,75% e l'EIPH nell'10,41%; 4/48 soggetti sono risultati sani.

Parole chiave: IAD, EIPH, RAO, scarso rendimento, cavallo sportivo.

## ABSTRACT

*Respiratory tract disease is the second most common cause of poor performance, training interruption and premature retirement in racehorses, causing economic losses.*

*The purpose of this study is to do the state of the art about this topic and to show cytological result obtained from bronchoalveolar lavage (BAL) and tracheal wash (TW) of racehorses with poor performance.*

*45 BAL and TW were performed in horses differing in breed, sex and age. All the subject were submitted to clinical examination, pleural ultrasonography and endoscopic dynamic exam. BAL fluid was citocentrifuged and smears obtained were stained with Diff-Quick<sup>®</sup>, Perl's Prussian blue and Toluidine blue. Differential count of 400 inflammatory cells was made for each smear; hemosiderophages percentage was calculated upon the whole alveolar macrophages.*

*IAD was detected in 62,5% of horses, RAO in 18,75% and EIPH in 10,41%; 4/48.*

*Key words: IAD, EIPH, RAO, poor performance, racehorses.*

<b>Introduzione</b>	<b>viii</b>
<b>I Parte generale</b>	<b>1</b>
<b>1 Medicina sportiva</b>	<b>2</b>
1.1 Storia della medicina sportiva . . . . .	2
1.2 Scarso rendimento o <i>poor performance</i> . . . . .	5
<b>2 Apparato respiratorio</b>	<b>8</b>
2.1 Anatomia . . . . .	8
2.1.1 Vie aeree e polmoni . . . . .	8
2.1.2 Muscoli respiratori e diaframma . . . . .	21
2.1.3 Apporto ematico . . . . .	23
2.2 Fisiologia . . . . .	24
2.2.1 Ventilazione . . . . .	24
2.2.2 Ciclo respiratorio . . . . .	24
2.2.3 Volumi e Capacità polmonari . . . . .	26
2.2.4 Compliance . . . . .	28
2.2.5 Resistenza polmonare . . . . .	28
2.2.6 Perfusione . . . . .	29
2.2.7 Scambi gassosi . . . . .	31
2.2.8 Controllo nervoso . . . . .	33
2.2.9 Equilibrio acido-base . . . . .	35
2.2.10 Funzioni metaboliche . . . . .	36
2.2.11 Meccanismi di Difesa . . . . .	36

---

<b>3</b>	<b>Patologie delle vie aeree profonde</b>	<b>39</b>
3.1	Infiammazione delle vie aeree ( <i>Inflammatory Airways Disease IAD - Small Inflammatory Airway Disease SAID</i> ) . . . . .	39
3.2	Pneumopatia cronica ostruttiva ( <i>Chronic Obstruction Pulmonary Disease COPD - Recurrent Airway Obstruction RAO</i> ) . . . . .	47
3.3	Emorragia polmonare da sforzo ( <i>Exercise-Induced Pulmonary Hemorrhage EIPH</i> ) . . . . .	51
3.4	Afezioni di origine infettiva . . . . .	57
<b>4</b>	<b>Strumenti diagnostici</b>	<b>61</b>
4.1	Raccolta dell'anamnesi . . . . .	61
4.2	Esame Clinico . . . . .	63
4.3	Le tecniche di campionamento . . . . .	66
4.3.1	Aspirato transtracheale ( <i>Transtracheal Aspiration TTA</i> )	68
4.3.2	Lavaggio tracheale ( <i>Tracheal Wash TW</i> ) . . . . .	69
4.3.3	Lavaggio broncoalveolare ( <i>Bronchoalveolar Lavage BAL</i> )	70
4.4	Esame del campione raccolto . . . . .	75
4.4.1	Esame citologico . . . . .	75
4.4.2	Esame colturale . . . . .	78
4.5	Esame ecografico . . . . .	79
4.6	Esame radiografico . . . . .	81
4.7	Toracentesi . . . . .	82
4.8	Biopsia polmonare . . . . .	83
4.9	Esami ematologici . . . . .	83
4.10	Emogas analisi . . . . .	84
4.11	Tests di funzionalità polmonare . . . . .	85
<b>II</b>	<b>Parte sperimentale</b>	<b>86</b>
<b>5</b>	<b>Scopo della tesi</b>	<b>87</b>
<b>6</b>	<b>Materiali e metodi</b>	<b>88</b>
6.1	Protocollo sperimentale . . . . .	88
6.1.1	Raccolta anamnesi ed esame clinico . . . . .	88
6.1.2	Tecnica di campionamento . . . . .	89
6.1.3	Preparazione del campione . . . . .	90
6.1.4	Criteri di valutazione . . . . .	92
<b>7</b>	<b>Risultati</b>	<b>94</b>
<b>8</b>	<b>Discussione e conclusioni</b>	<b>98</b>

## ELENCO DELLE FIGURE

1.1	Ribot vince l'Arc de Triomphe . . . . .	3
1.2	Simulazione di gara sul treadmill . . . . .	4
1.3	Varenne vince l'Amérique . . . . .	6
1.4	Adattamento sul treadmill . . . . .	7
2.1	Struttura delle vie aeree intrapolmonari . . . . .	15
2.2	Volumi polmonari . . . . .	27
2.3	Componenti della resistenza polmonare totale . . . . .	30
3.1	Radiografia polmonare di un soggetto con EIPH . . . . .	54
4.1	Ipertrofia muscoli addominali in cavallo affetto da RAO . . . . .	64
4.2	<i>Rebreathing bag</i> . . . . .	65
4.3	Iter diagnostico . . . . .	67
4.4	Ecografie pleuriche . . . . .	80
6.1	Strumenti utilizzati per lo studio . . . . .	90
7.1	Distribuzione della popolazione per razza . . . . .	96
7.2	Distribuzione della popolazione per sesso . . . . .	96
7.3	Distribuzione della popolazione per età . . . . .	97
7.4	Prevalenza delle patologie nella popolazione esaminata ottenuta dall'esame citologico . . . . .	97

## ELENCO DELLE TABELLE

3.1	Classificazione IAD secondo Ferrucci . . . . .	45
3.2	Valutazione quantitativa del sangue . . . . .	53
3.3	Batteri responsabili di patologie polmonari . . . . .	58
3.4	Farmaci di elezione per infezioni batteriche . . . . .	60
4.1	Valutazione quantitativa del muco . . . . .	71
4.2	Citologia soggetti sani . . . . .	77
6.1	Distribuzione della popolazione secondo l'età . . . . .	89
7.1	Risultati del lavoro . . . . .	95



La broncoscopia è un esame collaterale indispensabile per completare la valutazione clinica delle malattie delle vie respiratorie. Nel cavallo atleta assume particolare importanza perché taluni soggetti sono affetti da malattie delle basse vie respiratorie, paucisintomatiche a riposo, che sono responsabili di riduzioni consistenti del rendimento sportivo.

L'esame endoscopico attraverso la visualizzazione diretta fornisce indicazioni sullo stato della mucosa tracheale, bronchiale e sulla quantità di secreto e permette con il lavaggio tracheale e broncoalveolare di raccogliere materiale utile per l'esame citologico e batteriologico.

Nelle ultime due decadi sono stati pubblicati numerosi studi che hanno avuto come scopo quello di standardizzare:

- a. le manovre tecniche del prelievo,
- b. le modalità di conservazione del campione,
- c. la conta totale delle cellule nucleate,
- d. l'allestimento dei preparati e le colorazioni da utilizzare,
- e. l'interpretazione del quadro citologico.

Sebbene ad oggi lo stato dell'arte su questa indagine collaterale abbia raggiunto un ottimo livello, esistono interpretazioni discordanti del quadro citologico nel sano e scarsa univocità sulla classificazione di *patterns* cellulari osservabili nelle tre principali forme di malattie delle vie basse respiratorie (infiammazione delle vie aeree, pneumopatia cronico ostruttiva ed emorragia polmonare da sforzo).

Lo scopo di questa tesi è quello di riassumere quanto conosciuto sull'argomento e mostrare i risultati dell'esame citologico ottenuto da lavaggi broncoalveolari e tracheali di 48 cavalli sportivi, posti all'attenzione del Dipartimento di Clinica Veterinaria della facoltà di Medicina Veterinaria di Pisa, per calo del rendimento atletico, in un periodo che va dal Gennaio 2003 fino all'Ottobre 2007.

Per la valutazione di tutti i soggetti sono stati applicati gli stessi criteri in modo da ottenere un quadro generale dell'incidenza delle diverse patologie. Dopo la raccolta dei dati anamnestici i cavalli sono stati sottoposti ad una visita clinica completa volta a valutare le condizioni fisiche del soggetto al fine di escludere i casi di non rendimento dipendenti da patologie non respiratorie. Per quanto riguarda l'esame obiettivo particolare dell'apparato respiratorio, l'auscultazione è stata effettuata anche con *rebreathing bag*, per identificare rumori non evidenziabili altrimenti.

I cavalli sono stati sottoposti anche ad un esame ecografico delle pleure per diagnosticare eventuali formazioni ascessuali, alterazioni del foglietto pleurico viscerale e/o raccolte liquide.

Infine tutti i soggetti sono stati sottoposti ad esame endoscopico dinamico su *treadmill* per escludere patologie a carico delle prime vie aeree.

Sia il lavaggio broncoalveolare che quello tracheale sono stati effettuati circa un'ora dopo l'esercizio massimale.

Per ogni soggetto sono stati raccolti almeno 30–40 ml di liquido refluo dal polmone, quindi il campione è stato immediatamente utilizzato per la conta cellulare tramite contaglobuli. Da ogni campione ottenuto sono state prelevate 4 aliquote da 400  $\mu$ l, che sono state citocentrifugate per ottenere un totale di 8 vetrini per soggetto.

Per ogni campione sono stati colorati: due vetrini con Diff-Quick<sup>®</sup>, uno con la metodica di Perls e solo in alcuni casi, uno anche con Blu di Toluidina; successivamente sono stati osservati al microscopio. Per ogni campione sono state contate 400 cellule e ottenute le percentuali di: macrofagi, linfociti, neutrofilo, eosinofili e mastociti. Inoltre è stata anche eseguita una valutazione della percentuale di emosiderofagi sul totale della popolazione macrofagica. La IAD è stata diagnosticata in 30/48 (62,5%) di queste 8 (16,67% sul totale delle patologie) erano di tipo eosinofilo e 22 (45,83%) di tipo misto; la RAO è stata osservata in 9/48 (18,75%), l'EIPH in 5/48 (10,41%). In 3 (15,79%) soggetti appartenenti al gruppo delle IAD miste e in 1 (12,5%) di quelli appartenenti al gruppo delle IAD eosinofile è stato osservato anche un quadro associato di EIPH. Quattro soggetti (8,33%) sono risultati nella norma tanto nella conta totale che nel quadro citologico.

Parte I  
Parte generale

# CAPITOLO 1

## MEDICINA SPORTIVA

*In questo capitolo si riporta l'evoluzione della storia della medicina sportiva equina. Successivamente si introduce il concetto di poor performance mettendo in evidenza le differenze rispetto a quello di intolleranza all'esercizio accennando brevemente alle cause e alla sintomatologia.*

### 1.1 Storia della medicina sportiva

I primi studi in fisiologia sportiva equina, durante tutta la metà degli anni trenta, si focalizzarono principalmente sul metabolismo energetico con particolare rilevanza per il cavallo da lavoro. Tra gli anni cinquanta e sessanta il vero pioniere della medicina sportiva equina fu il Professor Sune Persson che iniziò i suoi studi sui trottatori svedesi.

Persson fu la prima persona che introdusse il *treadmill* per studiare la fisiologia dell'esercizio. Oggi il *treadmill* viene ampiamente usato per l'allenamento sportivo degli atleti. Il sempre più diffuso interesse nella fisiologia del cavallo raggiunse il suo apice nelle tre conferenze mondiali in materia di fisiologia equina tenute ad Oxford (UK), San Diego (USA) e Uppsala (Svezia) tra il 1982 e il 1990.

Nei primi anni ottanta un gruppo di veterinari diede vita all'*Association for Equine Sports Medicine* che proprio nel 1981 organizzava un convegno annuale con relazioni e discussioni concernenti la fisiologia del movimento del cavallo e altri aspetti di medicina sportiva. Inoltre, l'associazione pubblicava una rivista trimestrale contenente brevi lavori circa i diversi problemi che interferiscono con lo svolgimento dell'attività sportiva del cavallo.

Allo stato attuale i veterinari specializzati in medicina sportiva hanno im-



Figura 1.1: Ribot taglia per primo il traguardo dell'Arc de Triomphe, la sua gara d'addio. (Foto Publifoto)

parato a diagnosticare e trattare un'ampia gamma di condizioni che rallentano la corsa, causano ogni tipo di zoppia, risultano economicamente onerose e mettono in pericolo la vita stessa dell'animale.

Rispetto al passato, lo specialista in medicina sportiva ha smesso di rapportarsi al cavallo atleta come alla versione ingrandita dell'atleta umano e ha cominciato a considerare l'equino come ad un animale originale, dotato di una propria fisiologia e di un suo personale adattamento all'esercizio fisico.

Negli anni precedenti, molte di queste sue tipiche caratteristiche non sono state capite dagli scrittori dei principali libri di fitness e manuali d'allenamento sportivo, e questo è uno dei principali motivi per cui la medicina sportiva equina è diventata un'entità a sé stante soltanto nell'ultimo decennio rispetto al settore umano in cui ha assunto il ruolo di disciplina attiva già da un quarto di secolo. Il concetto moderno di medicina sportiva equina si concretizza nella possibilità di applicare trattamenti nuovi e innovativi delle affezioni contratte nel corso dell'attività sportiva. Comprende, infatti, tutta una serie di procedure diagnostiche e chirurgiche specifiche che in genere sono eseguite esclusivamente da veterinari esperti, e che consentono di localizzare le cause di scarso rendimento e di trattarle nel modo più appropriato.

Come affermato dal William E. Jones *“Studiare la fisiologia del movimento significa studiare medicina. Vengono, infatti, considerati il metabolismo muscolare, le modificazioni respiratorie che avvengono durante la corsa,*

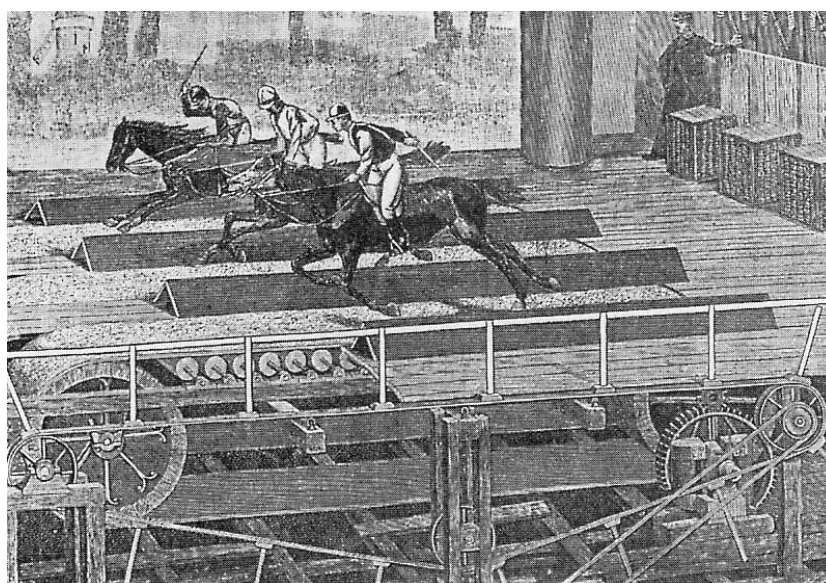


Figura 1.2: Corsa di cavalli simulata sul treadmill avuta luogo al Varieties Theater. Illustrazione da [1].

*quelle circolatorie legate all'esercizio fisico, le risposte cardiache compensatorie che conseguono al condizionamento oltre alle modificazioni di ossa, tendini e cartilagini articolari".* Questa constatazione ha indotto alcuni ambienti ad affrontare l'impegno di sostituire i metodi tradizionali nel tentativo di fornire al cavallo una preparazione fisica adeguata alle prestazioni richieste.

Il concetto di medicina sportiva equina e l'applicazione della fisiologia del movimento nell'allenamento equino furono accettati con maggiore facilità dall'ambiente veterinario. Al contrario, sono stati pochi gli allenatori disposti ad ascoltare tali considerazioni, ad eccezione dei sostenitori di Tom Ivers, autore del libro *The Fit Racehorse*, che ha apertamente criticato quel tipo di allenatore che non considera il cavallo fatto di carne e sangue al pari degli atleti umani.

I primi sostenitori della medicina equina (verso la fine degli anni '70) lamentavano che la maggior parte dei cavalli da corsa, buoni o mediocri, si azzoppavano per cause che venivano considerate "rischi inevitabili del mestiere".

La nascita della medicina sportiva di buona qualità ha rappresentato sicuramente una fortuna per i cavalli e per gli stessi proprietari che possono trarne benefici anche maggiori dell'allenatore o del veterinario. La percentuale dei cavalli da competizione che viene scartata è notevole, soprattutto fra quelli

da corsa, e la perdita economica ricade sul proprietario stesso. Soltanto il 50% dei purosangue da corsa acquistati come promettenti riesce a raggiungere l'obiettivo della competizione. Un controllo continuo ed efficace consente di scartare più velocemente i cavalli perdenti, riducendo il carico finanziario destinato al mantenimento dei possibili campioni. Fra i purosangue che riescono ad intraprendere la carriera competitiva senza cedimenti prematuri, meno della metà vincerà una gara e soltanto una minima percentuale consentirà di ammortizzare le spese. Pertanto il programma di valutazione deve essere costante durante ogni prova sportiva al fine di eliminare i soggetti che non vincono a sufficienza.

## 1.2 Scarso rendimento o *poor performance*

Quando si parla della *poor performance* di un cavallo, ci si riferisce a tutte quelle situazioni in cui l'animale non riesce ad ottenere durante la competizione i risultati attesi.

Il sinonimo italiano Sindrome da Scarso Rendimento (SSR), ha un significato indubbiamente diverso dall'Intolleranza all'Esercizio (IE), stato per cui il soggetto non sopporta alcun tipo di attività fisica di una certa intensità. Nella SSR, difficilmente si riscontrano segni clinici riconducibili a patologie in corso, mentre l'IE è evidente anche durante l'esercizio lieve ed è associato a problemi clinicamente ben individuabili.

Le cause di SSR sono classificate in base all'apparato coinvolto:

1. Apparato muscolo-scheletrico (ossa, articolazioni, muscoli)
2. Apparato respiratorio (naso, prime vie aeree, trachea, polmoni)
3. Apparato cardiovascolare (cuore, vasi)
4. Sistema nervoso (encefalo, midollo spinale, nervi periferici)
5. Apparato digerente (stomaco, intestino).

I sintomi che indirizzano il medico veterinario verso un sospetto di *poor performance* dipendono anche dalla disciplina sportiva del cavallo:

- Soggetti da dressage mostrano fastidio all'imboccatura o possono rifiutarsi di eseguire figure che in passato svolgevano correttamente.
- I cavalli da corsa mostrano un rallentamento improvviso, scivolando dalla prima alla terza-quarta posizione, o mostrano un calo di forma.

- I cavalli da concorso possono rifiutare gli ostacoli, o abbattere le barriere.
- I cavalli da endurance possono mostrare un ritardo nel recupero o incapacità a terminare la competizione.
- Gli event horses possono manifestare una scarsa ripresa fisica come una frequenza cardiaca e respiratoria elevate e innalzamento della temperatura corporea.
- I cavalli da compagnia possono inciampare ripetutamente durante una semplice passeggiata e mostrare sintomi di irritazione come agitare nervosamente la coda o pesantezza della testa.

Chiari sintomi di disagio, come laminiti o difficoltà respiratoria possono manifestarsi in tutti i tipi di cavalli insieme ad inappetenza, problemi gastrointestinali e irritabilità. Il primo passo che il clinico deve compiere è quello di



Figura 1.3: Varenne vince il Gran Prix d’Amerique nel 2002.

capire se il soggetto ha sofferto di una riduzione delle sue performance o se, molto più semplicemente, il cavallo è geneticamente incapace di produrre le prestazioni sportive attese. Il quadro anamnestico generale e quello relativo alle prestazioni sportive deve essere il più completo possibile.

La storia personale è fondamentale per stabilire il decorso e la severità del non rendimento. Si dovrà determinare se il cavallo ha subito una progressiva



o recidivante riduzione delle capacità o se il fatto è stato acuto ed inaspettato.

Nel caso dei cavalli sportivi, una scrupolosa serie di domande rivolte ai loro allenatori spesso rivelano che in realtà quel soggetto non ha mai realmente dimostrato un'indole da campione. Per esempio raramente i cavalli da corsa, durante l'allenamento in pista, galoppo su distanze superiori a quelle di gara e perciò i loro allenatori potrebbero mal interpretare le abilità dell'animale se messi a correre su distanze superiori ai 400–600 m [2].



Figura 1.4: Adattamento di un cavallo su treadmill presso il laboratorio sperimentale per il cavallo sportivo della Facoltà di Medicina Veterinaria di Pisa.

## CAPITOLO 2

# APPARATO RESPIRATORIO

*In questo capitolo sono richiamati i principali concetti di anatomia e fisiologia dell'apparato respiratorio prestando particolare attenzione alle strutture più profonde.*

## 2.1 Anatomia

### 2.1.1 Vie aeree e polmoni

L'apparato respiratorio è costituito dai polmoni e dalle vie aeree. I polmoni presiedono agli scambi gassosi tra aria e sangue che consistono nell'assunzione di ossigeno e nell'eliminazione di anidride carbonica. Le vie aeree sono strutture tubulari che consentono all'aria di fluire verso i polmoni e viceversa. Iniziano con le narici e comprendono, nell'ordine: cavità nasali, faringe, laringe, trachea, bronchi principali e albero bronchiale. A livello della faringe avviene l'incrocio tra gli apparati digerente e respiratorio. La laringe e segmenti successivi delle vie aeree vengono anche indicati come vie aeree profonde.

#### Vie aeree superiori

Le vie aeree superiori comprendono le cavità nasali con annessi i seni paranasali, il nasofaringe e la laringe.

##### LE CAVITÀ NASALI

Le *cavità nasali* sono due condotti affiancati che si estendono in senso antero-posteriore, nello splancocranio; si aprono rostralmente all'esterno con le narici

e si continuano aboralmente, con la faringe, a livello delle coane. Sono anche ampiamente connesse ai seni paranasali. Le *narici* sono due orifizi collocati nella parte anteriore del muso, al di sopra del labbro superiore e davanti alle regioni del dorso del naso e delle guance. Sono lunghe 6–7 cm e larghe 3–4 cm, dotate di notevole mobilità. Sono separate tra loro da uno spazio, *apice del naso*, hanno la forma di una grossa virgola orientata dorsoventralmente che porta ad individuare in ciascuna di esse due margini, dorsomediale e ventrolaterale, raccordanti alle estremità dalle commisure mediale e laterale. Il margine ventrolaterale è il più lungo e ha profilo concavo; il dorsomediale è breve e convesso, e concorre alla formazione dell'*ala del naso*. La commessura mediale è ampia e rotondeggiante; la laterale tende ad essere acuta. L'apice del naso è ampio e convesso. Coperto da cute sottile, presenta pochi peli, alcuni dei quali sono di tipo tattile.

La narice immette inferiormente nel vestibolo e superiormente nel *diverticolo del naso* che è un sacco a fondo cieco rivestito da cute. Si distinguono una parte inferiore, *narice vera*, e una superiore, *narice falsa* che immette nel diverticolo.

Il *vestibolo* è un breve canale di 6–7 cm che fa seguito alla narice e si continua, aboralmente, con la cavità nasale propriamente detta. Dalla sua parete laterale si solleva la *piega alare* che sporge nel lume. La sua cavità è rivestita da cute modificata che, aboralmente, si continua con la mucosa respiratoria. Sul pavimento del vestibolo, a livello della giunzione mucocutanea, sbocca il *condotto nasolacrimale* di circa 3 mm di diametro.

La base scheletrica delle cavità nasali è formata dalle ossa incisivo e nasale e dalle cartilagini del setto, dalla cartilagine accessoria mediale, dalle cartilagini alari e da quella laterale dorsale che risulta poco sviluppata negli equini. La cartilagine alare si trova lungo buona parte del bordo di ciascuna narice e si presenta a forma di virgola.

Ogni cavità nasale è compresa tra l'ostio vestibolare nasale e l'etmoide. Sono separate dalla cavità buccale dal palato osseo. Le due cavità nasali sono separate tra di loro dal *setto nasale*. Nella parte rostrale del pavimento è situato lo sbocco del *condotto nasopalatino* o *condotto incisivo* che termina a fondo cieco nella sottomucosa del palato. All'altezza del condotto incisivo ha inizio il *condotto vomeronasale* che si estende caudalmente per 10–14 cm.

Per la presenza delle volute dei cornetti che sporgono nel lume, la cavità nasale appare distinta in 3–4 corridoi, i *meati*, dorsale, medio e ventrale. Il meato dorsale è il più stretto e termina a fondo cieco nel labirinto etmoidale. Il meato medio corre tra i cornetti superiore e inferiore e aboralmente raggiunge le volute etmoidali. Il meato ventrale (detto anche respiratorio) è il più breve e si continua con il *condotto rinofaringeo* che si apre con la coana nel rinofaringe.

La mucosa nasale è distinta nelle porzioni olfattiva e respiratoria. La mucosa respiratoria è fornita di un epitelio cilindrico pseudostratificato in cui abbondano cellule ciliate e cellule caliciformi mucipare. Nello spessore della mucosa si trovano gli adenomeri delle *ghiandole nasali* che elaborano un secreto prevalentemente sieroso. La mucosa olfattiva è costituita da un epitelio cilindrico pseudostratificato e dalla lamina propria. Nell'epitelio, si distinguono cellule di sostegno, olfattive e basali.

#### I SENI PARANASALI

I *seni paranasali* sono un insieme di celle di forma irregolare che si espandono nello spessore di molte ossa del neurocranio e della faccia e sono collegate alle cavità nasali.

Il *seno frontale* occupa l'osso omonimo, si apre nel seno mascellare aborale. Sepimenti interni lo dividono nelle porzioni aborale, mediale e rostrale tra loro comunicanti.

Il *seno mascellare* si trova nell'osso omonimo ove un setto trasverso lo distingue nei distretti aborale e rostrale. Al seno mascellare aborale fanno capo il seno frontale e il seno palatino.

Nel palatino, nello sfenoide e nel vomere si trovano delle cellette indicate come altrettanti seni. I cornetti e le volute etmoidali vanno ad identificare i *seni concali superiore e inferiore*.

Le loro cavità sono rivestite da mucosa con epitelio di tipo respiratorio, anche se, nei distretti più profondi, tende ad affermarsi un epitelio cubico privo di elementi vibratili. La lamina propria della mucosa è povera di ghiandole e di vasi sanguigni.

#### LA LARINGE

La laringe è un organo cavo, impari e mediano, di forma tubolare collocato sotto il laringofaringe e sospesa alla base cranica attraverso l'apparato ioideo. Con l'estremità craniale comunica con la faringe (adito alla laringe), con la caudale si continua con la trachea. Ha una lunghezza di circa 10 cm e un diametro dorso-ventrale quasi uguale, mentre la larghezza massima si aggira sui 6–7 cm.

La laringe include una cavità appena schiacciata trasversalmente e parzialmente suddivisa, nel senso craniocaudale, da alcune pliche delle pareti laterali nelle porzioni: sovraglottidea, glottidea e sottoglottidea.

La porzione sovraglottidea, *vestibolo della laringe*, è lo spazio compreso tra l'estremità craniale dell'organo e le pliche vocali. In avanti è posto l'adito della laringe, un orifizio a diametro maggiore craniocaudale, delimitato rostralmente dall'epiglottide, da ciascun lato dalla piega ariepiglottica della

mucosa e dorsocaudalmente dalle aritenoidi. Caudalmente all'adito, le pareti laterali del vestibolo presentano una plica posta tra base dell'epiglottide e aritenoidi del proprio lato (*piega vestibolare*). Tra le pliche vestibolare e vocale, la parete del vestibolo approfonda in una depressione *ventricolo laterale*. Alla base dell'epiglottide la mucosa costituisce un piccolo *seno sottoepiglottico* o *recesso mediano*.

La *porzione glottidea* della laringe, corrisponde allo spazio compreso tra le due *pliche vocali* e tra una parte delle basi delle aritenoidi. Le pieghe vocali partono dalla faccia interna della cartilagine tiroidea e terminano sul processo vocale della base della corrispondente aritenoidi. Abbastanza alte e sottili, delimitano tra i loro bordi liberi lo *spazio glottideo* o *glottide*, a forma di triangolo con base superiore accolta tra le aritenoidi. La porzione più ristretta dello spazio glottideo viene definita *glottide vocale*; quella più ampia, *glottide respiratoria*.

La *porzione sottoglottidea* della laringe è relativamente ampia e breve; ha pareti lisce e, dorsalmente, tra le aritenoidi, presenta una piccola depressione, il *seno sottoaritenoidi*.

La struttura di sostegno della laringe è assicurata dalle cartilagini: tiroidea, cricoidea e epiglottica, impari, e dalle cartilagini aritenoidi, cuneiformi e corniculate, pari.

La *cartilagine tiroidea* è di tipo ialino e consta di due lamine disposte a V e accordate ventralmente. Mostra rapporti di connessione con il corpo dell'osso ioide e caudalmente con la cartilagine cricoidea.

La *cartilagine cricoidea*, di tipo ialino. Posta trasversalmente, appena dietro la cartilagine tiroidea. Appare distinta in una parte superiore quasi pianeggiante, la lamina, e in una inferiore, l'arco. Cranialmente ha rapporti con la cartilagine tiroidea e caudalmente con il primo anello tracheale.

La *cartilagine epiglottica* o epiglottide è di natura elastica ed ha l'aspetto di una piccola foglia. Con la sua estremità inferiore si articola con la superficie interna della cartilagine tiroidea, le restanti parti sono libere.

La *cartilagine aritenoidi* è di tipo ialino tranne che in corrispondenza dell'apice, ove risulta di natura elastica: assieme alla controlaterale si articola con la base sulla lamina cricoide.

Le piccole *cartilagini cuneiformi* si riscontrano nell'ambito delle pieghe arigenoepiglottiche e sono in connessione con la base dell'epiglottide.

## **Vie aeree profonde**

### LA CAVITÀ TORACICA

La cavità toracica ha la forma di cono tronco leggermente schiacciato nel senso trasversale, con base minore craniale e base maggiore caudale tagliata

a sbieco nel senso dorsoventrale e caudocraniale. È delimitata dalla gabbia toracica, dai muscoli a questa connessi e, caudalmente, dal diaframma. La sua volta ha per supporto scheletrico i corpi delle vertebre toraciche e le porzioni prossimali delle coste. I primi fanno rilievo lungo il piano mediano e, pertanto, risultano fiancheggiati da ciascun lato dalla *doccia polmonare* o *solco costovertebrale*. Il muscolo lungo del collo si appone al corpo delle prime sei-sette vertebre, mentre sugli ultimi si trova la parte iniziale del muscolo piccolo psoas. Il pavimento della cavità toracica è breve e concavo nel senso trasversale; è sostenuto dallo sterno e dalle porzioni distali delle cartilagini costali sulle quali si addossa il muscolo trasverso del torace. Le pareti laterali sono concave e più estese nella porzione media; loro supporto sono le coste e i muscoli intercostali. La base, fornita dal diaframma, è concava in quanto questo muscolo si spinge in avanti con la sua parte centrale, *cupola diaframmatica*, fino al livello della sesta costa. L'apice corrisponde all'apertura craniale della cavità toracica che appare più o meno stretta nel senso laterale; è delimitata dal primo paio di coste, dalla prima vertebra toracica e dal manubrio dello sterno.

Il diaframma si inserisce ad angolo acuto lungo il margine della base per cui tra parete costale e muscolo viene a definirsi una stretta fessura indicata come *seno costodiaframmatico* (vedi § 2.1.2).

Nella cavità toracica, sono contenuti importanti organi degli apparati respiratorio, digerente e circolatorio che assumono complessi rapporti reciproci e con due formazioni sierose: i sacchi pleurici e pericardico. Gran parte della cavità toracica è occupata dai polmoni ed è rivestita dalla pleura parietale.

#### LA TRACHEA

La *trachea* è un lungo condotto cilindrico impari e mediano posto tra laringe e bronchi lungo 65–75 cm e ha diametro medio di 5–6 cm. Percorre la regione viscerale del collo (porzione cervicale) e la gabbia toracica (porzione toracica) fino al mediastino medio dove si divide nei due bronchi principali. Nella parte craniale della regione cervicale, il condotto tracheale è quasi circolare, mentre nella parte inferiore del collo si appiattisce leggermente in senso dorso-ventrale e si allarga trasversalmente; nel torace diventa un po' più alto che largo. Il suo lume è tenuto beante da 50–53 *anelli tracheali* cartilaginei aperti le cui estremità aderiscono leggermente. Gli anelli distali, inoltre, possono essere completati da placchette cartilaginee. La trachea è dotata di notevole elasticità e segue i movimenti della laringe e del collo.

Nella *porzione cervicale* la trachea assume rapporti ventralmente con i muscoli sottoioidei e, nel tratto più craniale, con la ghiandola tiroide; lateralmente, con il fascio vascolonervoso del collo, con i muscoli omoioideo e

brachiocefalico e, limitatamente al terzo caudale sinistro, con l'esofago nel tratto in cui questo organo modifica la sua posizione (da dorsale a laterale); dorsalmente, nei due terzi craniali con l'esofago e in quello caudale con il muscolo lungo del collo.

La *porzione toracica* si estende fino al IV–VI spazio intercostale; accolta nel mediastino craniale e medio, tra le due pleure viscerali, stabilisce in questo tratto rapporti abbastanza complessi con gli organi circostanti. Ventralmente è in contatto con la vena cava craniale e, più a sinistra, con il tronco brachiocefalico. Più caudalmente, incrocia sul lato destro l'arco aortico in vicinanza della base del cuore. Dorsalmente è in contatto con il muscolo lungo del collo con le prime due-tre vertebre toraciche e poi con l'esofago che ha riacquisito la sua posizione dorsale. Lateralmente, ha rapporti con il vago e con i collaterali del tronco brachiocefalico.

La divisione dei bronchi avviene a livello della base del cuore, in corrispondenza dell'atrio sinistro dopo che la trachea ha incrociato a destra l'aorta e a sinistra la vena azigos.

Nell'organizzazione strutturale della trachea, si riconoscono, procedendo dall'esterno verso l'interno, la tunica avventizia, fibrocartilaginea, la sottomucosa e la mucosa. Limitatamente a una stretta fascia dorsale, inoltre, si individua anche una componente muscolare.

La *tunica avventizia*, di natura connettivale, accompagna la trachea per tutta la lunghezza e provvede a vincolarla, in modo piuttosto lasso, agli organi circostanti. La *tunica fibrocartilaginea* è una membrana fibroelastica che accoglie una serie di anelli di cartilagine ialina. A livello della biforcazione della trachea, si trova un speciale elemento costituito da due semianelli vincolati ad un pezzo mediano (*sperone tracheale*). Il pericondrio degli anelli cartilaginei assume intimi rapporti con la membrana fibroelastica che costituisce tra essi dei *legamenti anulari*, particolarmente ricchi di fibre elastiche. La *componente muscolare* è compresa, dorsalmente, nella membrana fibroelastica; le sue fibre sono disposte trasversalmente, all'interno delle estremità degli anelli, e formano, nel loro complesso, una lamina continua, indicata come *muscolo tracheale*. Con la sua contrazione, questo muscolo può variare il lume della trachea.

La *tunica sottomucosa*, costituita da connettivo lasso ricco di fibre elastiche, è piuttosto sottile nelle porzioni ventrale e laterali della trachea mentre è più abbondante in quella dorsale ove consente alla mucosa di sollevarsi in pliche longitudinali. La *tunica mucosa* è rivestita da un epitelio cilindrico pseudostratificato con cellule ciliate, mucipare e con orletto striato. Le cellule ciliate sono numerose; il battito continuo delle loro ciglia, orientato verso la laringe, provvede ad allontanare il muco con le particelle solide in esso intrappolate. Le cellule mucipare sono di tipo caliciforme; le cellule con

orletto striato hanno superficie libera fornita di numerosissimi microvilli. La lamina propria della mucosa è costituita da connettivo ricco di fibre elastiche e di elementi linfatici; ospita in più punti gli adenomeri delle *ghiandole tracheali* che profondano spesso nella sottomucosa. Le ghiandole sono di tipo tubuloalveolare ramificato e producono un secreto sieroso o sieromucoso.

La trachea è irrorata da rami delle carotidi comuni nel tratto cervicale e dalle arterie succlavie e bronchiali in quello toracico. I vasi si risolvono in reti nella parte profonda della lamina propria e sotto l'epitelio. Le vene sono satelliti delle arterie; raggiungono in buona parte le giugulari. I linfatici formano reti nella mucosa e sono tributari dei linfonodi cervicali profondi per il tratto cervicale e quelli mediastinici per la parte toracica.

I nervi derivano da branche del ricorrente da rami toracici del vago e da componenti del simpatico. Terminazioni sensitive di tipo libero e corpuscolato si riscontrano numerose nella mucosa.

#### I BRONCHI

Dalla divisione della trachea originano i due bronchi principali ciascuno dei quali si immette nell'ilo del rispettivo polmone. All'interno di questo, il bronco principale va incontro a una serie di divisioni che, nel loro complesso, costituiscono l'*albero bronchiale*, formato da rami progressivamente più numerosi ma di calibro minore. Le terminazioni periferiche dell'albero bronchiale fanno capo al parenchima polmonare.

Nell'albero bronchiale, il bronco principale si risolve in un numero limitato di *bronchi lobari* collocati nella parte dorsale del polmone e ciascuno destinato a un lobo polmonare. I bronchi lobari destinati ai lobi apicali sono particolarmente sviluppati nel cavallo. I bronchi lobari si dividono in *bronchi segmentali* i quali servono zone nell'ambito dei lobi. A loro volta, i bronchi segmentali si risolvono in molti *bronchi subsegmentati* o *interlobulari*, tributari di aree più limitate. Questi bronchi si dividono numerose volte dando rami sempre più piccoli fino al diametro di 0,5–1 mm (vedi fig. 2.1). A questo livello, l'albero ha dato origine a una miriade di *bronchioli* o *bronchi lobulari* che fanno parte del parenchima polmonare. Nell'ilo, il bronco principale penetra nel polmone recando superiormente l'arteria bronchiale e ventralmente quella polmonare; questa è a sua volta in rapporto, nella parte inferiore, con le vene polmonari. In relazioni con questi bronchi, si trovano inoltre, vasi linfatici, linfonodi e nervi.

Nel polmone destro, si individuano, in genere, quattro bronchi lobari destinati, nell'ordine, ai lobi apicale, medio, caudale e accessorio (o azigos). Nel polmone sinistro, i bronchi lobari sono due rispettivamente per i lobi apicale e caudale. Il bronco per il lobo apicale, inoltre, è più sviluppato nel polmone



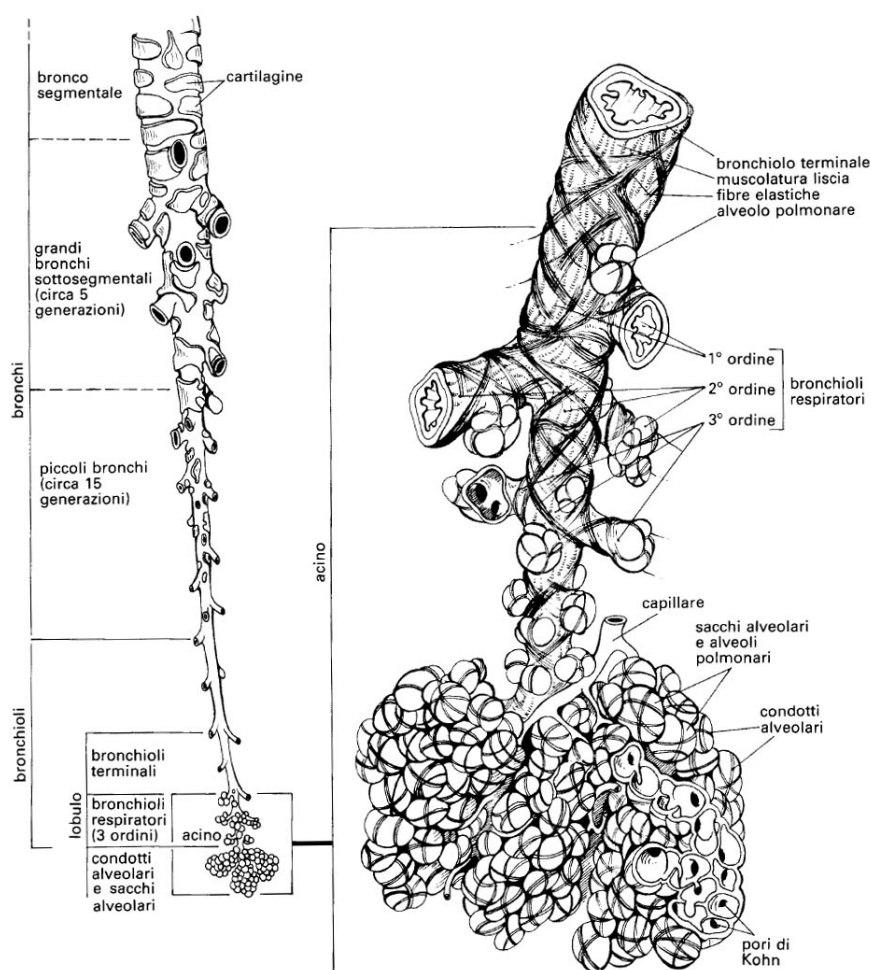


Figura 2.1: Struttura delle vie aeree intrapolmonari (fonte: [3])

destro.

La struttura dei bronchi richiama quella della trachea anche se, con il procedere delle divisioni, si osserva una semplificazione delle varie tuniche. Nei bronchi più grandi, gli anelli si riducono progressivamente fino ad essere sostituiti da placche di cartilagine (bronchi principali e lobari), al contrario, il muscolo tracheale tende ad estendersi. Nella tunica sottomucosa, sono costanti gli adenomeri delle *ghiandole bronchiali* che superano, talora, la tunica fibroelastica. Le ghiandole bronchiali sono di tipo tubulo-acinoso semplice, a secrezione sierosa o sieromucosa.

Nei bronchi di calibro minore, si osserva il progressivo assottigliamento della tunica fibroelastica e l'ulteriore riduzione delle placchette di cartilagini

che non sono più presenti a partire dai bronchi interlobulari. La tunica muscolare si espande fino a circondare l'intero bronco con fibrocellule disposte a spirale o trasversali (*muscolo bronchiale di Reissensen*). La mucosa diviene sottile: il suo epitelio da pseudostratificato si trasforma gradualmente in cubico semplice. Diminuiscono le cellule caliciformi mentre restano abbondanti quelle ciliate. Nella lamina propria, è possibile individuare due strati. Il più interno, sottoepiteliale, lasso e ricco di vasi sanguigni, ha un numero limitato di fibre elastiche; il più esterno, invece, è denso e ospita un buon numero di fibre elastiche orientate longitudinalmente. Nei bronchi di calibro maggiore, le fibre si aggregano in fasci paralleli. Le ghiandole bronchiali mancano nei bronchi più piccoli.

L'albero bronchiale riceve rami dall'arteria bronchiale; questi formano una rete sottomucosa e una più esile sottoepiteliare. Le vene dei bronchi più piccoli si immettono direttamente nella vena polmonare; quelle del restante albero bronchiale e del connettivo stromale formano piccole vene bronchiali satelliti delle arterie. I linfatici costituiscono una rete sottomucosa e sono tributari dei linfonodi dell'ilo del polmone e della trachea. I nervi sono dati dai rami bronchiali del vago e del simpatico; piccoli gruppi di cellule gangliari si riscontrano all'esterno dei grossi bronchi.

### I POLMONI

Il polmone è un voluminoso organo pari. Nella cavità toracica, ciascun polmone è contenuto nel corrispondente sacco sieroso pleurico il quale occupa la *loggia polmonare*. Questa è definita come la parte di cavità toracica compresa tra la parete laterale della cavità stessa, parte del diaframma, caudalmente, e pleura mediastinica, medialmente. Le due logge polmonari, pertanto, vengono in contatto sul piano mediano a livello delle pleure mediastiniche. Queste due lamine sierose, però, aderiscono solo in alcune zone e sono distanziate in altre così da definire tra loro uno spazio irregolare, il mediastino, occupato dal sacco pericardico, dai grossi vasi connessi al cuore, dall'esofago, dalla trachea, dai dotti linfatici e dai linfonodi e, nell'animale giovane, dal timo toracico.

Ciascuno *sacco pleurico* consta, come tutte le sierose, di due foglietti, parietale e viscerale. Il primo (*pleura parietale*) tappezza la loggia polmonare che esso delimita nel piano mediale. Il secondo (*pleura viscerale*) aderisce intimamente al polmone e passa in quello parietale a livello dell'ilo e del legamento polmonare posti sulla superficie mediale dell'organo. Tra i foglietti si trova uno spazio virtuale, *cavità pleurica*, occupato da un sottile velo di *liquido pleurico*. Nella cavità pleurica, si riscontra una pressione negativa che concorre a tenere espanso il polmone il quale, per la sua elasticità, tenderebbe ad occupare un volume molto inferiore a quello delle loggia polmonare.

Considerato nella sua normale posizione, il polmone ha la forma di un semicono con apice volto in avanti e base apposta al diaframma, tagliata a sbieco nel senso dorsoventrale e caudocraniale. Il suo volume corrisponde grosso modo a quello della loggia polmonare e presenta oscillazioni legate agli atti respiratori. In genere, il polmone destro è più grande del sinistro che ha la parte apicale meno estesa ed è scavato da una più profonda depressione cardiaca. Il peso medio dei due polmoni è di circa 6 *kg*. Il suo peso specifico, nell'adulto, è minore di quello dell'acqua per la persistenza di aria nelle sue cavità, mentre è maggiore nel feto. Il colore del polmone varia con l'età: rossobruno nel feto, diviene rosso vivace dopo i primi atti respiratori e grigiastro nell'adulto. Con l'avanzare dell'età, diviene sempre più scuro a causa dell'accumulo di pulviscolo atmosferico nel suo tessuto interstiziale.

Nel polmone si individuano le facce laterale e mediale, la base, l'apice e i margini dorsale, ventrale e caudale.

La *faccia laterale* è convessa e in rapporto con la parete laterale della loggia polmonare.

La *faccia mediale* si contrappone, attraverso il mediastino, a quella del polmone controlaterale. In una zona quasi centrale, presenta l'*ilo*, area in cui penetrano il bronco principale, le arterie polmonare e bronchiale e i nervi, e fuoriescono le vene polmonari e i linfatici. L'insieme di queste strutture, avvolte dalla pleura, è spesso indicato come *peduncolo polmonare*. In continuazione dell'ilo fino al diaframma corre il *legamento polmonare* costituito dalle due lamine di pleura viscerale accollate che dalla faccia mediale del polmone si portano alla pleura mediastinica. La faccia mediale ha rapporti anche con la vena azigos, con il dotto toracico e con i nervi vago e frenico. La *base* si modella sulla superficie craniale del diaframma e appare più o meno concava.

L'*apice* è la parte più craniale del polmone. Si presenta arrotondato e appena piegato verso il basso.

Il *margin dorsale* è relativamente spesso e convesso trasversalmente; è accolto nel seno costovertebrale e appare più ampio nella sua porzione caudale.

Il *margin ventrale* è piuttosto breve e sottile.

Il *margin caudale* è sottile e si adatta al seno costodiaframmatico che non occupa completamente.

I polmoni sono poco lobati; entrambi presentano un lobo craniale e uno caudale. Il limite tra questi due lobi corrisponde all'incisura cardiaca. Il polmone destro presenta anche un lobo accessorio ben sviluppato.

Per *lobo polmonare* si intende quella parte di parenchima areata da un bronco lobare e irrorato da vasi propri, distinti da quelli contigui. Nell'ambito di ciascun lobo, si identificano ulteriori suddivisioni, le *zone* o *segmenti*

*broncopolmonari*. Queste hanno estensione variabile e sono servite da bronco, arteria e vena segmentali.

I segmenti broncopolmonari sono formati da un certo numero di unità più piccole, i *lobuli polmonari*, ognuno dei quali ha forma piramidale, ed è delimitato dai lobuli circostanti da un sottile strato di tessuto interlobulare. Ogni lobulo è raggiunto all'apice da un *bronco lobulare* il quale, all'interno del lobulo, va incontro a 4–5 divisioni dicotomiche e quindi dà i *bronchioli terminali* ciascuno dei quali si suddivide in due *bronchioli respiratori*. Questi si risolvono, distalmente, in più *condottini alveolari* da cui derivano, infine, vari *sacchi alveolari* o *infundiboli*, ampie dilatazioni che terminano a fondo cieco. Sulla parete dei bronchioli respiratori e ancora più su quella dei condotti alveolari si trovano numerose piccole estroflessioni, gli *alveoli polmonari*, che, infine, tappezzano completamente i sacchi alveolari. Gli alveoli sono strettamente accostati gli uni agli altri per cui posseggono dei *setti interalveolari* comuni.

L'insieme delle divisioni del bronchiolo terminale (bronchioli respiratori, condottini alveolari e infundiboli) costituisce un *acino polmonare*; ogni lobulo comprende in genere 10–15 acini. Un piccolo ramo dell'arteria polmonare accompagna il bronco lobulare e si suddivide con esso; i suoi rami più piccoli si risolvono in delicate ma ampie reti capillari intorno alle ultime diramazioni bronchiali e agli alveoli. Sulle prime divisioni del bronco lobulare, si spingono anche piccole diramazioni dell'arteria bronchiale. Le vene, derivate dalla rete capillare, si portano nel connettivo perilobulare e fanno capo all'apice del lobulo. I vasi linfatici e i nervi seguono le divisioni del bronco lobulare.

Il connettivo interlobulare che delimita i lobuli si continua profondamente con quello intralobulare che occupa gli spazi tra i bronchioli e gli alveoli (*stroma polmonare*). In periferia, questo connettivo è connesso a quello sottosieroso e, d'altro canto, è in continuità con il connettivo che accompagna, a partire dall'ilo, tutto l'albero bronchiale. Questa componente fornisce supporto ai vasi e ai nervi ed è particolarmente ricca di fibre elastiche che, assieme alle strutture dello stesso tipo presenti nella parete dei bronchi e dei vasi concorre a conferire al polmone la sua caratteristica elasticità.

I lobuli con il connettivo perilobulare e con i vasi e nervi in essi compresi costituiscono il *parenchima polmonare*. I bronchi lobulari e le loro prime divisioni conservano ancora la struttura tipica dei bronchi, anche se la tunica fibroelastica è priva a questo livello di formazioni cartilaginee mentre la componente muscolare si espande una tunica completa con fibrocellule orientate a spirale. All'esterno, l'avventizia si continua con lo stroma; internamente la mucosa possiede una sottile lamina propria ed è rivestita da un epitelio cilindrico-cubico tra le cui cellule abbondano gli elementi ciliati mentre sono scarsi quelli caliciformi. A questo livello sono assenti le ghiandole bronchiali.

I bronchi terminali e quelli respiratori presentano struttura ancora più semplice. L'epitelio è di tipo cubico o appiattito; la lamina propria, piuttosto esile, è ricca di fibre elastiche ed è contornata da un certo numero di fibre muscolari lisce. Nei condotti alveolari, la parete di tipo bronchiale è limitata alle poche aree libere da alveoli. Nella lamina propria della mucosa, si individuano ancora, accanto alle fibre elastiche, poche fibre muscolari. Nei sacchi alveolari, non è più presente alcuna traccia delle strutture bronchiali.

Gli alveoli hanno parete molto sottile formata dall'epitelio e dalla membrana basale al cui esterno si pone uno strato di connettivo molto ricco di fibre elastiche. Queste ultime poche fibre muscolari costituiscono un colletto in corrispondenza dell'apertura di ciascun alveolo. Nella lamina propria, si riscontrano una diffusa rete di capillari dal calibro relativamente limitato tale da consentire il passaggio di un globulo rosso per volta. L'epitelio che riveste gli alveoli presenta tre tipi di cellule. Le più comuni sono i *pneumociti piccoli* (o di primo tipo), elementi appiattiti formati da un esile lembo citoplasmatico che si solleva nell'area in cui è presente il nucleo di forma ovoidale. Nel loro citoplasma, i vari organuli sono poco rappresentati. Meno numerosi sono i *pneumociti grandi* (o di secondo tipo), cellule cubiche che sporgono nel lume dell'alveolo. Nel loro citoplasma, gli organuli sono ben rappresentati e, in particolare, si evidenziano i citosomi o *corpi multilamellari*, circondati da membrana. Numerosi nella zona sovranucleare della cellula, questi corpi, molto ricchi di lipoproteine, sono eliminati nel lume degli alveoli ove darebbero origine a un velo di materiale tensioattivo che, rivestendo la parete dell'alveolo, ne impedisce il collasso. Tra le cellule epiteliali ma anche nei setti interalveolari e nel lume dell'alveolo, si riscontrano anche *macrofagi alveolari* che, quando sono disposti tra le cellule dell'epitelio, somigliano ai pneumociti grandi. Certamente sono coinvolti nella depurazione degli alveoli dai microscopici corpi estranei come testimonia la presenza nel loro citoplasma di particelle di pulviscolo.

Nel connettivo dei setti interalveolari, abbondano fibre elastiche, fibrociti e cellule della serie bianca del sangue, come linfociti e macrofagi. Tra lume dell'alveolo e parete dei capillari, si pongono nell'ordine, l'epitelio, la membrana basale, uno spazio connettivale interstiziale, la lamina basale del capillare e l'endotelio. In alcuni casi le due lamine basali possono fondersi e quindi ridurre la distanza tra aria e sangue.

Nei lobuli polmonari giungono le ultime diramazioni dell'arteria bronchiale che si distribuiscono fino alle prime divisioni del bronco lobulare. Molto più imponente è l'irrorazione portata dal ramo lobulare dell'arteria polmonare. Questo si suddivide con le stesse modalità del bronco lobulare e i suoi ultimi rami, a livello dei condottini e dei sacchi alveolari, si risolvono in ampia rete di capillari. Da questa iniziano piccole venule che passano nel connettivo

intralobulare e fanno capo a vene lobulari satelliti della rispettiva arteria. I vasi linfatici sono molto numerosi e si distinguono in una rete superficiale collocata in posizione sottopleurica, e in una profonda che drena la linfa della maggior parte del parenchima e si risolve in vasi che seguono a ritroso l'albero bronchiale. Le due reti sono in parte indipendenti ma fanno capo entrambe ai linfonodi dell'ilo, a quelli tracheobronchiali e ai mediastinici. I nervi sono dati da rami del vago e del simpatico.

#### LA PLEURA

La *pleura parietale* tappezza e delimita la loggia polmonare; è distinta nei distretti costale, diaframmatico e mediastinico. La *pleura costale* si applica sulla superficie interna della parete costale, aderendo alla fascia endotoracica. In avanti, definisce l'apice di ciascuna loggia polmonare disegnando una *cupola pleurica* che accoglie il lobo craniale del polmone. Caudalmente, si spinge nel *seno costodiaframmatico* e si continua a questo livello con la pleura diaframmatica. Dorsocaudalmente, entra in rapporto con i pilastri del diaframma e forma il *seno lombodiaframmatico*. La *pleura diaframmatica* riveste la superficie craniale del diaframma aderendo alla fascia endotoracica e, molto più intimamente, al centro tendineo. Alla base del polmone destro, avvolge la vena cava caudale e l'accompagna con una piega fino al pericardio. Medialmente si continua con la *pleura mediastinica*. Questa continua la pleura parietale al livello dei corpi delle vertebre toraciche e si porta ventralmente fino allo sterno ove si continua con la pleura costale a livello del *seno costo-mediastinico*. Le pleure mediastiniche dei due sacchi pleurici in alcuni tratti sono adese tra loro ma in altri sono distanziate a delimitare uno spazio mediano craniocaudale, il *mediastino*, che è distinto nei distretti craniale, medio e caudale. Il *mediastino craniale*, è esteso tra pericardio e apertura del torace. È attraversato superiormente dall'esofago, dalla trachea e dai grossi vasi in rapporto con il cuore (rami dell'arco aortico, vena cava craniale e sue radici). Contiene, inoltre, vari linfonodi, il dotto toracico, i nervi vago e frenico e la catena del simpatico. Più ventralmente, ospita il timo nell'animale giovane e una certa quantità di grasso in quello adulto. Il *mediastino medio* è relativamente ampio ed è occupato dal sacco pericardico che contiene il cuore. Dorsalmente, accoglie l'arco aortico, l'arteria polmonare, il tratto terminale delle vene cave e della trachea, i due bronchi principali, l'esofago, e il nervo vago e, appena più ventralmente, quelli frenici. Il *mediastino caudale* si estende tra sacco pericardico e diaframma. Dorsalmente, è percorso dall'aorta toracica, dal dotto toracico, dalla vena azigos; sotto questi accoglie l'esofago e i nervi vago e frenici. Ospita, inoltre, numerosi linfonodi. Il mediastino caudale è interrotto, dietro la radice del polmone, mediante la zona di aderenza

interpolmonare. La sua parte ventrale, nell'adulto, è cribrosa e si presenta perforata da innumerevoli piccoli fori.

La *pleura viscerale* è un foglietto sottile che aderisce alle superficie del polmone rendendola levigata e lucente. Al livello dell'ilo, delimita il peduncolo polmonare per poi continuarsi nella pleura parietale. Posteriormente all'ilo, costituisce il legamento polmonare che si porta fino al diaframma. Negli equini i due foglietti del legamento polmonare sono un poco distanziati per cui i polmoni dei due lati vengono quasi a contatto diretto.

La pleura è costituita da un mesotelio e da uno strato sottomesoteliale. Il primo, formato da un epitelio pavimentoso semplice, ne riveste la superficie libera; il secondo è un esile strato di connettivo lasso che si continua profondamente in una lamina di connettivo più denso, ricco di fibre elastiche. La pleura viscerale si collega con lo strato sottosieroso allo stroma del parenchima polmonare.

La pleura viscerale è irrorata da rami delle arterie bronchiale e polmonare, mentre quella parietale riceve branche delle arterie intercostali, freniche craniali, toracica interna e mediastiniche, a seconda della regione. Le vene sono satellite delle arterie. Per la pleura parietale, tuttavia, un buon numero di vene raggiunge il sistema delle azigos.

I linfatici della pleura viscerale sono tributari dei linfonodi dell'ilo e dei tracheobronchiali, tracheali e mediastinici. Quelli della pleura parietale vanno ai linfonodi mediastinici, intercostali e sternali.

I nervi della pleura viscerale derivano da quelli destinati al polmone. La pleura parietale è raggiunta da branche dei nervi intercostali e di quelli frenici ma anche dal vago e dal parasimpatico toracico [4].

### 2.1.2 Muscoli respiratori e diaframma

I muscoli propri del torace comprendono i muscoli intercostali esterni e interni, elevatori delle coste, retto del torace, trasverso del torace, retrattore dell'ultima costa e diaframma.

I *muscoli intercostali esterni* sono brevi lamine muscolari poste negli spazi tra le coste, in posizione superficiale. Si estendono, nel senso dorsoventrale, dalle articolazioni vertebrocostali alle cartilagini costali. Sono costituiti da fasci di fibre muscolari, misti a tessuto connettivo fibroso, orientati nel senso dorsoventrale e craniocaudale tra il margine posteriore di una costa e quello anteriore della successiva. In profondità, si addossano agli intercostali interni e ai fasci vascolonervosi intercostali. Questi muscoli agiscono come inspiratori e concorrono a chiudere le pareti laterali della gabbia toracica.

I *muscoli intercostali interni*, posti profondamente ai precedenti, sono costituiti da brevi lamine che hanno andamento opposto a quello degli inter-

costali esterni. Dal margine craniale di ciascuna costa raggiungono quello caudale della costa antistante e si estendono dal livello dei segmenti cartilaginei delle coste fino alle articolazioni vertebrocostali.

I *muscoli elevatori delle coste* sono muscoli brevi che originano dai processi trasversi delle vertebre toraciche e, allargandosi a ventaglio, terminano sulla costa retrostante. Per la loro posizione sono anche indicati come *muscoli sovracostali*.

Il *muscolo retto del torace*, indicato anche come *muscolo trasverso delle coste*, si presenta appiattito e applicato alla superficie esterna delle prime coste. Nasce alla parte lateroventrale della prima costa, inframezzato ai fasci fibrosi, si porta caudoventralmente per terminare con un'aponeurosi sulle cartilagini costali, dalla seconda alla quarta o quinta, in prossimità dello sterno.

Il *muscolo trasverso del torace* è disposto internamente al torace sulla faccia dorsale dello sterno e delle estremità sternali delle coste. Nasce con un'aponeurosi dal legamento sternale, sul piano saggittale mediano; carnoso, si porta lateralmente sulle coste fino alle articolazioni costocondrali, dalla seconda alla settima.

Il *muscolo retrattore dell'ultima costa* origina dai processi costiformi delle prime vertebre lombari e termina sulla porzione prossimale del margine caudale dell'ultima costa. È un muscolo espiratorio.

#### IL DIAFRAMMA

È una lamina muscoloaponeurotica posta tra la cavità addominale e quella toracica in cui si spinge fino al livello della sesta costa a formare la *cupola diaframmatica*. La componente carnosa, costituita da fasci con andamento raggiato, occupa la periferia, mentre al centro è posta la parte aponeurotica indicata come *centro frenico* o *centro tendineo*.

Nella porzione carnosa si distinguono tre parti: lombare, costale e sternale. La parte lombare è la più robusta e consta di due lamine muscolari affiancate, i *pilastrini, destro e sinistro, del diaframma*. Ciascuno di questi origina mediante una formazione tendinea dai corpi delle vertebre lombari e dal legamento longitudinale ventrale che riveste tali strutture. Si porta quindi in avanti per espandersi a ventaglio verso il centro tendineo. Il pilastro destro è più esteso. Il pilastro sinistro, più dorsalmente, è traforato dal passaggio per l'aorta, la vena azigos e il dotto toracico, *iato aortico*. Nel cavallo in rapporto con la parte mediale dei due pilastrini, si individuano dei fasci muscolari distinti che vengono talora denominati *pilastrini mediali del diaframma*. A questo livello, verso il centro tendineo, si individua tra i due pilastrini, l'orifizio per il passaggio dell'esofago (*iato esofageo*) ed dei nervi vaghi.



La parte costale è costituita da digitazioni che originano dalla faccia interna delle cartilagini di molte coste sternali, fino all'ultima, e si dirigono verso il centro tendineo. A livello dell'ultima costa, queste porzioni costeggiano i margini esterni dei pilastri e delimitano con questi, dorsalmente, il passaggio per i muscoli psoas, *iati psoatici*.

La parte sternale nasce dalla faccia dorsale della cartilagine xifoidea e si porta, craniodorsalmente, verso il centro frenico.

Il *centro tendineo* è il punto d'incontro delle porzioni tendinee provenienti dalle diverse zone carnose. Esso costituisce un'ampia aponeurosi di forma triangolare con fasci di fibre a direzione essenzialmente radiale; presenta, nella sua zona centrale, l'orifizio per il passaggio della vena cava caudale, *iato per la vena cava*. Il diaframma è un muscolo inspiratore.

I pilastri originano con due tendini a livello del tratto lombare del legamento longitudinale ventrale.

I muscoli retto del torace e trasverso del torace sono irrorati rispettivamente dalle arterie toracica esterna e interna; il muscolo diaframmatico riceve le arterie freniche e ramuscoli delle ultime intercostali; i muscoli intercostali sono raggiunti dalle arterie omonime. Tutti i muscoli ad eccezione del diaframma, ricevono branche dei nervi intercostali. Il diaframma è innervato fondamentalmente dai nervi frenici.

### 2.1.3 Apporto ematico

Nel polmone coesistono due sistemi di circolazione sanguigna: la circolazione polmonare, responsabile dell'ossigenazione del sangue necessaria per la sopravvivenza dell'organismo e quella bronchiale, indispensabile per il nutrimento delle strutture polmonari.

La *circolazione polmonare* riceve il sangue dalle arterie polmonari che originano a livello del ventricolo destro. Le arterie trasportano il sangue venoso al polmone attraverso le loro ramificazioni. Raggiunta la parete degli alveoli formano un ricco plesso capillare dove il sangue viene ossigenato e ritorna attraverso le vene polmonari all'atrio sinistro. Nel cavallo le arterie polmonari adiacenti ai bronchioli e ai dotti alveolari hanno uno spesso strato di muscolatura liscia (più sottile rispetto al bovino e al suino, ma più spesso del cane e degli ovini). Lo sviluppo di questo strato è responsabile dell'ipertensione polmonare che si osserva a seguito di una vasocostrizione ipossica.

La *circolazione bronchiale* è una branca della circolazione sistemica ed è responsabile dell'apporto di sangue arterioso necessario per la nutrizione delle vie aeree e delle altre strutture polmonari. Questa circolazione origina da due arterie: l'arteria broncoesofagea, che irrorava le vie aeree ed i setti interlobulari di buona parte del polmone, e l'arteria apicale bronchiale destra che porta

il nutrimento alle vie aeree del lobo apicale di destra. Le arterie bronchiali formano nel tessuto connettivo delle vie aeree un plesso sottoepiteliale vascolare il cui ruolo probabilmente è quello di dissipare calore [1]. La circolazione bronchiale viene drenata dalla vena azigos o dalle vene polmonari.

A livello dei bronchioli terminali la circolazione bronchiale e quella polmonare si anastomizzano.

## **2.2 Fisiologia**

### **2.2.1 Ventilazione**

La ventilazione è un fenomeno ritmico in cui un determinato volume di aria entra nei polmoni, per essere sottoposto agli scambi respiratori, dopo che un volume approssimativamente uguale di gas, la cui composizione è rappresentata da una miscela di aria inspirata e di gas alveolare, è esalata nell'atmosfera.

La ventilazione non risulta uniforme in tutto il polmone. Questo perché la pressione intrapleurica non è uniforme in tutta la cavità toracica, ma subisce delle variazioni a causa della forza di gravità; in particolare la pressione è più bassa nelle porzioni dorsali rispetto alle porzioni ventrali del polmone. Conseguentemente, gli alveoli che si trovano nelle porzioni più dorsali sono maggiormente stirati, meno elastici e ricevono un minor quantità di aria durante l'inspirazione.

Inoltre nelle piccole vie aeree si generano delle differenze di resistenza e/o di compliance. L'aria inalata entra in maggior quantità nelle aree di polmone caratterizzate da bassa resistenza delle vie aeree e da alta compliance alveolare. Quindi, data la loro variabilità, alcuni alveoli si riempiono più lentamente di altri. Questo asincronismo ventilatorio è moderato nei cavalli sani e non ha effetti significativi sugli scambi respiratori a basse frequenze. Per contro in cavalli con significativo asincronismo (per esempio malattie subcliniche delle vie aeree), o con una frequenza respiratoria elevata durante l'esercizio, il fenomeno può portare ad uno scambio respiratorio non adeguato e può essere una causa di scarso rendimento atletico.

### **2.2.2 Ciclo respiratorio**

Il ciclo respiratorio si suddivide in quattro fasi: inspirazione, pausa inspiratoria, espirazione e pausa espiratoria. Si considera l'inizio del ciclo respiratorio la partenza dell'inspirazione durante la pausa espiratoria quando un volume di gas, definito capacità funzionale residua (FRC), è presente nei polmoni. Il

ciclo è completo alla fine della pausa che segue l'inspirazione. La durata della pausa è variabile. Tuttavia il ciclo, misurato in secondi, viene definito come l'intervallo tra due successive inspirazioni. L'inverso del ciclo rappresenta la frequenza respiratoria, che viene espressa come numero di respiri al minuto [3].

### **Inspirazione**

I muscoli respiratori sono responsabili dell'aumento del diametro dorsoventrale e laterale in rapporto all'orientamento che questi hanno nel loro inserimento. Le fibre dei muscoli intercostali sono orientate in modo tale che il loro attacco alla costa, situata immediatamente dietro, è spostato dal loro centro di rotazione nei confronti del punto di attacco della costa superiore. Poiché la costa superiore viene spinta in avanti dall'azione dei muscoli situati in posizione più craniale, si ottiene un aumento in senso dorsoventrale per la parte superiore del torace e laterale per la parte posteriore della gabbia toracica.

Durante l'iperpnea o la dispnea entrano in gioco altri muscoli che favoriscono la dilatazione della cassa toracica. La contrazione degli scaleni innalza le coste anteriori che sollevano anche la rimanente parte del torace, mentre gli sternocleidomastoidei elevano lo sterno. Altri gruppi muscolari possono aumentare, quando necessario, la profondità dell'inspirazione agendo in modo diverso. Quando la ventilazione aumenta marcatamente, come ad esempio durante l'esercizio fisico intenso, i muscoli del collo e della gola entrano in gioco facilitando il flusso di aria attraverso le vie aeree superiori. I muscoli della laringe, faringe e cavità nasali si contraggono riducendo la resistenza delle vie aeree superiori in modo da permettere una maggiore ventilazione.

Il diaframma è il muscolo inspiratorio più efficace, poiché è responsabile dell'espansione longitudinale del polmone. Durante la sua contrazione sposta caudalmente gli organi contenuti nell'addome.

### **Espirazione**

L'espiazione normalmente è passiva e un sostenuto, ma ridotto tono muscolare inspiratorio rende poco veloce l'espiazione, armonizzando il passaggio tra l'inspirazione e l'espiazione. Infatti i muscoli inspiratori si rilassano completamente solo quando l'espiazione è quasi finita. Il sostenuto tono dei muscoli inspiratori che diminuisce gradualmente durante l'espiazione è di grande importanza fisiologica. Se il supporto esercitato sulla gabbia toracica venisse a cessare improvvisamente, lo sterno e le coste si ritrarrebbero diminuendo in

modo violento il diametro del torace. La diminuzione improvvisa del volume toracico comprimerebbe i polmoni pieni d'aria inducendo un marcato aumento di pressione nella cavità toracica. Questo aumento pressorio renderebbe difficile il ritorno del sangue al cuore interferendo con la gittata cardiaca.

L'espirazione diviene attiva quando il respiro è vigoroso e questo si verifica quando aumenta la frequenza ventilatoria durante l'iperpnea o l'iperventilazione o quando l'aumento della resistenza delle vie aeree rende difficile l'espirazione. In questa situazione la forza dei muscoli espiratori coadiuva la forza passiva espiratoria dell'elasticità polmonare. Gli intercostali interni, che rappresentano i muscoli espiratori per eccellenza, hanno un orientamento obliquo opposto a quello degli intercostali esterni. La loro contrazione tende a retrarre lo sterno e a far ruotare le coste in avanti ed in basso, riducendo quindi i diametri dorsoventrali e laterali del torace.

Alcuni muscoli addominali possono contribuire se necessario, all'espiazione attiva. La contrazione dei muscoli obliquo esterno, retto addominale, obliquo interno ed addominale trasverso aumenta la pressione addominale che schiaccia in basso le coste e curva il tronco appiattendolo l'addome. Tutto questo spinge il diaframma in avanti facendolo cooperare nell'espiazione forzata.

### 2.2.3 Volumi e Capacità polmonari

La quantità di aria inspirata o espirata ad ogni atto respiratorio da un animale a riposo prende il nome di *volume tidalico* ( $V_t$ ), che nel cavallo sano è circa 12 ml/kg. Moltiplicando il volume tidalico per la frequenza respiratoria otteniamo il *volume minuto* ( $V_m$ ), cioè la quantità di aria inspirata o espirata in un minuto.

È stato notato che durante l'esercizio intenso, all'aumentare della velocità dell'animale, il volume minuto incrementa in maniera lineare passando dal valore a riposo che in media è di 80 l/min fino ad un massimo 1800 l/min.

L'incremento della ventilazione/minuto è necessario per sopperire alla maggiore richiesta di ossigeno ed incrementare l'eliminazione di anidride carbonica. Questa condizione si ottiene aumentando il volume tidalico, la frequenza respiratoria o entrambi i fattori. Nel trotatore tale incremento è dovuto, durante gli esercizi di bassa intensità, sia all'aumento del volume tidalico che a quello della frequenza respiratoria; ad alte velocità tale incremento è legato all'aumento della frequenza respiratoria. Nel galoppatore la respirazione e la locomozione sono accoppiati, perciò un aumento della ventilazione al minuto si ottiene incrementando il volume tidalico piuttosto che la frequenza. Durante il galoppo, la frequenza respiratoria si aggira intorno ai 110–130 atti/min e il  $V_m$  intorno ai 12–15 l/min fino ad arrivare a valori massimi (29,7 l/min in cavalli che hanno un rapporto passo/respiro di 2:1) [1].

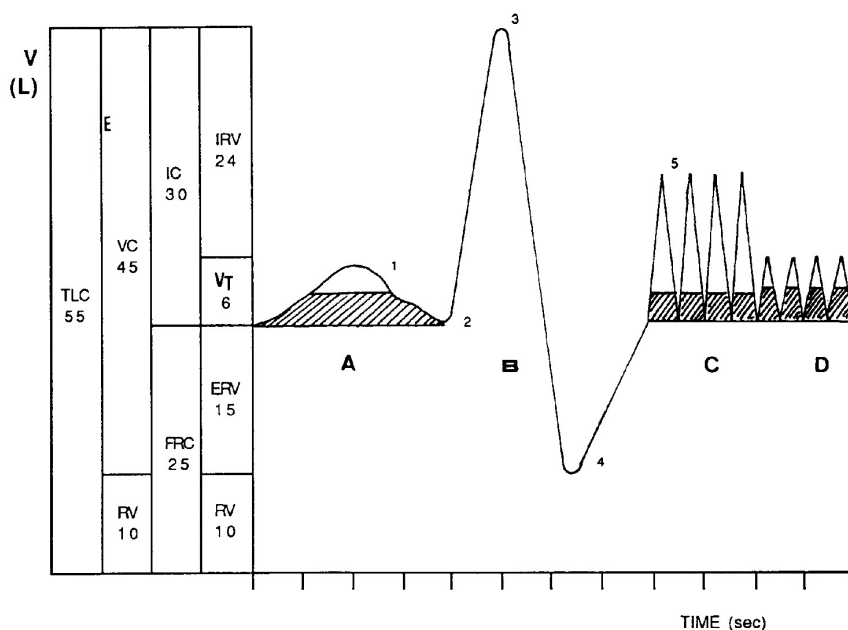


Figura 2.2: Volumi polmonari di un cavallo adulto sano in varie condizioni: A, a riposo B, respirazione forzata C, sotto sforzo D, fase di recupero [1].

L'aria che occupa lo *spazio morto fisiologico* non partecipa agli scambi gassosi. Tale spazio include le vie aeree (*spazio morto anatomico*) e gli alveoli che sono ventilati ma non perfusi (*spazio morto alveolare*). Lo spazio morto è circa il 50–60% del  $V_t$  nel cavallo a riposo, mentre durante uno sforzo intenso la percentuale scende fino al 20%. Quindi mediamente lo spazio morto si riduce da 3,5 litri a 2,5 litri. Poiché lo spazio morto anatomico è circa 2,5 litri a riposo e ci si aspetta che rimanga invariato anche durante l'esercizio, la differenza viene attribuita alla scomparsa dello spazio morto alveolare indotto dal reclutamento dei capillari polmonari precedentemente non funzionali [1].

Il *volume di riserva inspiratoria* (Inspiratory Reserve Volume, IRV) è la quantità d'aria che può essere inspirata forzatamente oltre il  $V_t$ . Al termine di una espirazione a riposo è possibile espellere un volume ulteriore di aria che viene definito *volume di riserva espiratoria* (Expiratory Reserve Volume ERV). Poiché i polmoni non collassano completamente anche dopo un'espirazione forzata, l'aria che rimane al loro interno dopo un atto espiratorio massimale, prende il nome di *volume residuo* (Residual Volume, RV).

Le varie combinazioni dei volumi polmonari vengono definite *capacità polmonari*. La combinazione dei quattro volumi precedentemente illustrati

viene definita come *capacità polmonare totale* (Total Lung Capacity, TLC). La *capacità inspiratoria* (Inspiratory Capacity, IC) rappresenta la massima quantità di aria che può essere inspirata partendo da un normale livello respiratorio, mentre la massima quantità che può essere allontanata con un'espirazione forzata dopo un'inspirazione massima viene definita *capacità vitale* (Vital Capacity, VC). Il volume corrispondente alla somma del volume residuo e quello di riserva espiratoria viene definito *capacità funzionale residua* (Functional Residual Capacity, FRC) e rappresenta la quantità di aria che rimane nel polmone al termine di una normale espirazione, funzionando quindi come riserva [3].

### 2.2.4 Compliance

La *compliance* del sistema broncopolmonare (*dynamic compliance*,  $C_{dyn}$ ) è una misura della sua elasticità e della resistenza alla deformazione prodotta da una forza di stiramento applicata. La compliance esprime quindi la forza della raccolta elastica dei polmoni che tenderebbe a farli collassare. Questa forza dipende sia dalle fibre elastiche presenti nel tessuto polmonare che dalla forza collassante generata dalla tensione superficiale dell'interfaccia aria/liquido a livello polmonare.

Sulle pareti degli alveoli è presente un materiale tensioattivo, denominato *surfactante*, in grado di abbassare la tensione superficiale.

Il tensioattivo polmonare è importante perchè:

1. permette la coesistenza di alveoli di diverso raggio senza creare un gradiente di pressione degli alveoli tra loro in comunicazione (stabilità alveolare);
2. abbassa la tensione superficiale minimizzando lo sforzo muscolare necessario ad insufflare i polmoni mantenendoli insufflati e areati;
3. aiuta a mantenere gli alveoli asciutti diminuendo le forze (tensione superficiale) che tendono a spingere i liquidi dai capillari negli spazi alveolari.

Il surfactante viene continuamente sintetizzato dalle cellule alveolari di tipo II ed ha un'emivita di 14 ore. I componenti principali del tensioattivo sono i fosfolipidi.

### 2.2.5 Resistenza polmonare

La resistenza polmonare totale fornisce una stima dell'opposizione esercitata dalle vie aeree al passaggio del flusso di aria. Il flusso respiratorio deve vincere

principalmente le resistenze d'attrito tra le molecole di aria e le pareti delle vie aeree. La resistenza  $R$  al passaggio del flusso d'aria attraverso un condotto dipende dal raggio e dalla lunghezza del tubo e dalle proprietà del gas espirato secondo la seguente formula:

$$R = \frac{8\mu\ell}{r^4}$$

dove  $\mu$  è la viscosità dell'aria,  $\ell$  la lunghezza delle vie aeree e  $r$  il raggio del condotto. Dall'equazione si evince l'importanza del raggio, un suo dimezzamento comporta un aumento di 16 volte della resistenza. A riposo il 50% della resistenza polmonare totale si localizza nel naso, il 30% nelle rimanenti vie aeree superiori e solo il 20% nelle vie aeree profonde (vedi figura 2.3).

L'esercizio induce un sostanziale aumento della resistenza, benché esistano adattamenti fisiologici, come la dilatazione delle narici, la completa abduzione del laringe e la broncodilatazione che tenderebbero a diminuire le resistenze e conseguentemente ad aumentare il flusso di aria. Infatti nonostante questi adattamenti l'esercizio intenso induce un aumento delle resistenze pari al doppio. Questo è dovuto ai fattori fisici intrinseci al flusso d'aria (frizione, turbolenze, distribuzione non omogenea delle resistenze lungo le vie aeree e gli alveoli) che aumentando comportano resistenze più elevate.

### 2.2.6 Perfusionione

La distribuzione del flusso ematico nei diversi distretti polmonari è influenzata dalla differenza di pressione tra arteria e vena polmonare, dalla resistenza vascolare e dalla forza gravitazionale.

È stato stimato che la resistenza vascolare nel polmone è circa un settimo di quella sistemica; di conseguenza la pressione media è minore di quella della circolazione sistemica (26 contro 124 mmHg).

Durante l'esercizio intenso il flusso di sangue a livello polmonare aumenta da 5 a 8 volte con un conseguente aumento della pressione che passa da 28 mmHg a riposo a 84 mmHg al galoppo fino ad un massimo di 100.

#### Fattori che influenzano la resistenza vascolare

La resistenza vascolare è influenzata da fattori sia intravasali che extravasali. Il cambiamento del volume polmonare rappresenta il principale fattore extravasale; in particolare la resistenza vascolare aumenta per una compressione dei capillari durante un'espiazione forzata (ridotto volume polmonare) o durante un'inspirazione forzata (distensione polmonare).

L'aumento della viscosità ematica durante l'esercizio è in grado di modificare

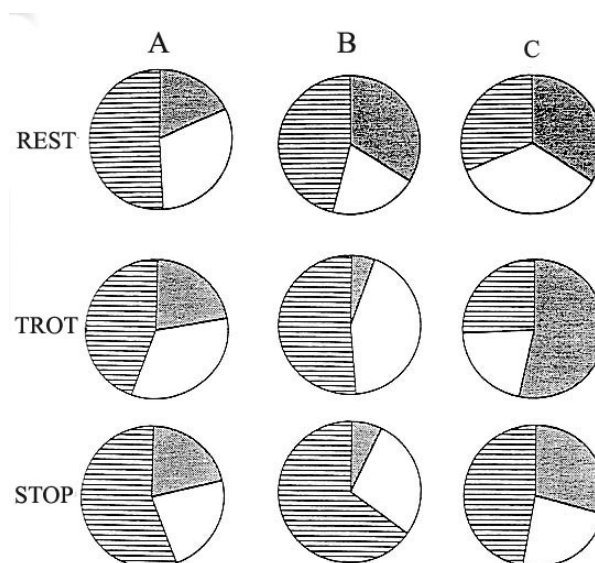


Figura 2.3: Componenti della resistenza polmonare totale: naso (area tratteggiata), laringe e trachea toracica (area chiara) e vie aeree intratoraciche (area scura) a riposo e durante l'esercizio (A: resistenza totale; B: resistenza inspiratoria; C: resistenza espiratoria; STOP: dopo 20 secondi di recupero. Da [1])

la resistenza vasale, per esempio ad un aumento dell'1% del PCV comporta un aumento della resistenza vascolare del 4%.

I fattori intravascolari che regolano la resistenza vascolare polmonare sono rappresentati dalle molecole vasoattive e dai cambiamenti nella composizione ematica. Tali fattori sono in grado di indurre una modificazione nel tono della muscolatura liscia vasale. All'aumentare del flusso sanguigno e/o della pressione polmonare arteriosa si ha una diminuzione della resistenza ottenuta tramite la dilatazione dei vasi periferici e il reclutamento di capillari che prima non erano perfusi.

In conclusione nonostante un aumento del PVC durante un esercizio intenso la resistenza ematica a livello polmonare diminuisce.

### Fattori che influenzano la distribuzione della perfusione

A causa della forza gravitazionale non tutti i settori del polmone sono irrorati nella stessa maniera, ma le regioni ventrali ricevono una maggiore perfusione rispetto alle porzioni più dorsali. È dunque possibile suddividere il polmone in zone diverse in base ai valori della pressione arteriosa, venosa e alveolare.



Zona 1. Comprende le porzioni più dorsali del polmone che non sono irrorate in condizioni di riposo. In questa zona la pressione media arteriosa normalmente non è in grado di superare la pressione idrostatica (data dalla colonna di sangue) per risalire fino agli alveoli. Quindi a questo livello la pressione alveolare eccede quella arteriosa e venosa per cui i capillari sono collassati. Questa zona del polmone a riposo non essendo perfusa non partecipa agli scambi gassosi.

Durante l'esercizio si ha un aumento della pressione arteriosa polmonare che riesce a superare quella idrostatica irrorando anche questi alveoli che potranno così partecipare agli scambi gassosi.

Zona 2. Comprende le porzioni del polmone in cui a livello capillare la pressione arteriosa è maggiore della pressione alveolare e che a sua volta è superiore alla pressione venosa. Di conseguenza i capillari sono pervi fino al punto in cui la pressione alveolare non eccede quella intravascolare. All'aumentare della pressione arteriosa anche questa zona si riduce di dimensioni.

Zona 3. Comprende le porzioni del polmone che partecipano costantemente agli scambi gassosi. Nei capillari a questo livello sia la pressione arteriosa che quella venosa superano la pressione alveolare e quindi sono perfusi lungo tutta la loro lunghezza.

Zona 4. Le zone periilari risultano maggiormente perfuse rispetto a quelle periferiche. Per spiegare ciò nell'uomo [5] è stata ipotizzata la presenza, oltre al gradiente verticale della forza di gravità, di un altro gradiente determinato dalla compressione esercitata dall'interstizio polmonare sui vasi che determina un aumento della resistenza vascolare e quindi una diminuzione della perfusione.

La perfusione polmonare è influenzata da tutti quei fattori che sono in grado di variare il grado di vasocostrizione.

### **2.2.7 Scambi gassosi**

Il polmone presiede agli scambi gassosi attraverso la diffusione di ossigeno dall'ambiente esterno all'organismo e tramite l'allontanamento dell'anidride carbonica dall'organismo all'ambiente.

Durante l'eupnea, il respiro nel cavallo adulto ha una frequenza di circa 12 atti al minuto e un volume tidale di circa 6,5 L; per una ventilazione totale di 80 L/min, e più di 100000 L al giorno. Il cavallo a riposo consuma approssimativamente 2,1 L/min di ossigeno (3000 L/die) e produce circa 1,7 L/min di anidride carbonica (2400 L/die). È quindi evidente l'importanza del ruolo che riveste il polmone nel mantenere entro limiti fisiologici la tensione dell'ossigeno arterioso, dell'anidride carbonica e il pH arterioso [6].

L'aria alveolare ha una pressione totale praticamente uguale a quella del-

l'aria atmosferica (760 mmHg), ma differisce da questa per la composizione, infatti è satura di H<sub>2</sub>O a 37 °C [1]; la tensione di ossigeno è inferiore (PAO<sub>2</sub> di 100 mmHg) ed è più ricca di anidride carbonica (PACO<sub>2</sub> di 40 mmHg). Affinchè avvenga la diffusione dei gas attraverso la parete alveolare deve esistere un gradiente di pressione che spinga l'O<sub>2</sub> dall'aria alveolare al sangue e viceversa per la CO<sub>2</sub>. Questi gradienti derivano dalla differenza esistente tra la pressione alveolare dei gas e la loro tensione nel sangue dei capillari polmonari. Nel sangue venoso che giunge ai polmoni la tensione dell'O<sub>2</sub> (PaO<sub>2</sub>) è di 40 mmHg, mentre il valore corrispondente per la CO<sub>2</sub> (PaCO<sub>2</sub>) è di 45 mmHg; le differenze saranno rispettivamente 60 mmHg per l'O<sub>2</sub> e 5 mmHg per la CO<sub>2</sub>. Il gradiente pressorio che si stabilisce in questo modo è molto importante per garantire la bi-direzionalità degli spostamenti gassosi, ma la quantità dei due gas scambiata nell'unità di tempo dipende anche da altri fattori come la superficie delle membrane respiratorie, il loro spessore, la quantità di sangue presente nei capillari polmonari e il tempo di contatto tra aria alveolare e sangue. La quantità di O<sub>2</sub> e quella di CO<sub>2</sub> scambiata nell'unità di tempo è praticamente la stessa nonostante che il gradiente della CO<sub>2</sub> sia nettamente inferiore a quello della O<sub>2</sub> (circa 10 volte). Questo perchè la CO<sub>2</sub> ha un coefficiente di solubilità nell'acqua 20 volte maggiore dell'O<sub>2</sub>. La velocità di scambio dei gas è tale che la situazione di equilibrio (momento in cui le tensioni della CO<sub>2</sub> e dell'O<sub>2</sub> nel sangue sono pressochè uguali alle rispettive pressioni parziali alveolari) viene raggiunta in un tempo molto minore di quello disponibile [7].

Questo rappresenta perciò un largo margine di sicurezza nella possibilità di scambi respiratori nei polmoni, anche se tale margine può essere ridotto da vari stati patologici che influenzano la diffusione gassosa, modificando la funzione respiratoria.

In assenza di patologie polmonari, l'ossigenazione delle arteria polmonare (PaO<sub>2</sub>) dipende dalla frazione di ossigeno inspirato (normalmente 0,2 L) e l'effettivo livello di ventilazione polmonare. Questo è approssimato da una versione dell'equazione dei gas alveolari:

$$PAO_2 = PIO_2 - (PACO_2)/R$$

in cui PAO<sub>2</sub> è la tensione di ossigeno alveolare, PIO<sub>2</sub> è la tensione dell'ossigeno inspirato, PACO<sub>2</sub> è la tensione di anidride carbonica alveolare, e R è il quoziente degli scambi respiratori (il rapporto della produzione di CO<sub>2</sub> e il consumo di O<sub>2</sub>). Poichè si ha una miscelazione di sangue venoso con la circolazione arteriale polmonare, la tensione dell'ossigeno alveolare eccede la tensione dell'ossigeno arterioso di circa 10 mmHg [6].

## 2.2.8 Controllo nervoso

### Livello Centrale

Attualmente non si conoscono nel dettaglio i meccanismi che regolano l'attività respiratoria. Studi condotti mediante sezioni dell'encefalo hanno però permesso di localizzare a livello bulbopontino le strutture che sovrintendono l'automaticità della respirazione. Inizialmente queste strutture furono chiamate *centri respiratori* ma attualmente si preferisce definire il loro insieme *generatore del ritmo respiratorio*, poiché anatomicamente non sono mai stati evidenziati dei veri e propri centri.

Secondo la vecchia teoria il centro respiratorio è costituito da un gruppo diffusamente sparso di neuroni nella formazione reticolare del bulbo e del ponte. Consta di tre formazioni principali: il centro bulbare della ritmicità, il centro apneustico e il centro pneumotassico. I neuroni inspiratori ed espiratori sono inframmischiati nel centro bulbare ed è questo che stabilisce il ritmo basale della respirazione. Nelle normali condizioni di riposo, l'inspirazione dura circa due secondi e l'espirazione circa tre secondi. In quest'area bulbare della ritmicità, si trova un circuito oscillatorio fondamentale, capace di provocare ripetitivamente inspirazione ed espirazione. Tuttavia questo centro non è capace, da solo, di assicurare un tipo di respiro normale e scorrevole. Al centro respiratorio bulbare pervengono segnali afferenti, oltre che dal midollo spinale, anche dalla corteccia cerebrale e dal mesencefalo, dal centro pneumotassico e da quello apneustico della parte superiore del ponte. Tutti questi segnali influiscono sul ritmo respiratorio e contribuiscono a realizzare un tipo di respirazione normale e scorrevole.

Secondo la teoria più recente del generatore ritmico gli stimoli che partono dai recettori di distensione polmonare inibiscono l'inspirazione mentre le fibre del nervo glossofaringeo che trasportano gli stimoli nascenti a livello dei chemorecettori periferici stimolano la respirazione. Entrambi questi inputs presentano la loro prima stazione di relais in vicinanza o addirittura nel nucleo del tratto solitario del sistema respiratorio dorsale. Le fibre motrici che lasciano il midollo allungato e transitano nel midollo spinale, per arrivare ad attivare i muscoli respiratori, originano nel nucleo retroambiguo, posizionato nel sistema respiratorio ventrale ed in prossimità del nucleo ambiguo; nel nucleo del tratto solitario appartenente al gruppo respiratorio dorsale; nel nucleo ambiguo del gruppo respiratorio ventrale; nel nucleo retroambiguo del gruppo ventrale; nel nucleo parabrachiale mediale (centro pneumotassico). Presumibilmente il generatore del ritmo basa il suo funzionamento sulle connessioni esistenti tra le parti dorsali e ventrali del sistema anche se numerose altre possono risultare coinvolte [3].

Nella porzione ventrale del midollo si localizzano dei chemocettori che rilevano i cambiamenti del pH del fluido interstiziale cerebrale che cooperano con le altre strutture alla regolazione della respirazione.

### **Livello Periferico**

I chemocettori periferici avvertono i cambiamenti nella composizione chimica del sangue arterioso. I cambiamenti nelle pressioni parziali di  $\text{CO}_2$  e del pH sono rilevati sia dai recettori periferici che centrali, mentre i cambiamenti nella pressione parziale di  $\text{O}_2$  sono rilevati solo dai recettori periferici.

I chemocettori periferici sono localizzati a livello dei glomi carotidei che si trovano alla biforcazione dell'arteria carotide comune e nell'aorta, vicino all'arco aortico. Questi chemocettori mandano impulsi afferenti ai centri di controllo tramite il vago e il glossofaringeo. La loro attività è stimolata da ipercapnia, ipossemia e acidosi ma anche da ipertermia e diminuzione della pressione sanguigna. Sono sensibili ai cambiamenti nella pressione parziale di  $\text{O}_2$  ma non nei cambiamenti del contenuto di ossiemoglobina.

Il controllo del tono della muscolatura liscia bronchiale è molto complesso e dipende da afferenze originate da recettori sensitivi. Sembra che tutti questi recettori siano innervati dal sistema nervoso parasimpatico. I recettori sensibili allo stimolo irritativo, localizzati al di sotto dell'epitelio della mucosa respiratoria, sono presenti nelle vie aeree superiori. La stimolazione fisica, meccanica o chimica di questi recettori induce tachipnea, broncocostrizione e/o tosse. La velocità del flusso di aria nelle vie aeree superiori sembra essere il fattore critico nel determinare la stimolazione dei recettori sensibili all'irritazione. Una diminuzione del diametro delle vie aeree, in grado di determinare una velocità di flusso dell'aria che supera una specifica soglia, provoca tosse e broncocostrizione riflesse di origine vagale. Le vie aeree possono anche essere occluse da muco, dall'edema o in seguito a liberazione di mediatori chimici rilasciati in corso di infezioni delle vie aeree superiori [8].

L'innervazione della muscolatura liscia dell'apparato respiratorio è complessa. Il sistema nervoso parasimpatico, che riconosce l'acetilcolina come neurotrasmettitore, fornisce l'innervazione primaria efferente. Queste fibre sono responsabili del tono basale che assicura un certo livello di broncocostrizione caratteristico delle vie respiratorie. Il sistema nervoso simpatico bilancia questo effetto inducendo una broncodilatazione attraverso la stimolazione dei recettori  $\beta_2$ . Al contrario una stimolazione  $\alpha$ -adrenergica può contribuire alla broncocostrizione. Una terza componente nervosa, definita come sistema non-adrenergico-non-colinergico (NANC), contribuisce all'innervazione della muscolatura liscia bronchiale. Questo sistema media effetti

broncodilatatori attraverso la stimolazione vagale. Le fibre afferenti di questo sistema sono probabilmente legate a recettori sensibili agli stimoli irritativi [9] e, benchè il neurotrasmettitore di questo sistema non sia stato ancora identificato in via definitiva, è stato dimostrato nel gatto un ruolo per il Peptide Vasoattivo Intestinale (VIP). Le disfunzioni di questo sistema provocano una iper-reattività bronchiale che caratterizza la malattia asmatica.

### 2.2.9 Equilibrio acido–base

Il *range* fisiologico di variabilità del pH nei liquidi extracellulari varia tra 7.36 e 7.44. La necessità di avere un sistema che mantenga il pH costante nasce dal fatto che quotidianamente si producono ed eliminano  $H^+$ . Nell'organismo infatti si formano continuamente acidi per l'ossidazione delle proteine e degli acidi nucleici (che producono  $H_2SO_4$  e  $H_3PO_4$ ), per la conversione metabolica della  $CO_2$  ad acido carbonico, per la liberazione di acido lattico e di altri acidi prodotti attraverso il metabolismo anaerobico dei carboidrati e dei grassi. Questi acidi dissociati aumentano la concentrazione di  $H^+$  del sangue in quanto per definizione sono donatori di protoni. La disponibilità di protoni porta allo spostamento del pH e questo non rientra nei canoni fondamentali dell'omeostasi che ne impedisce lo spostamento per garantire la normale sopravvivenza.

Per mantenere il pH entro limiti fisiologici è necessaria la costante azione dei sistemi tampone. I principali sistemi tamponi dell'organismo sono:

1. sistema acido carbonico ( $H_2CO_3$ )/bicarbonati ( $HCO_3^-$ ) a livello renale;
2. i tamponi proteici;
3. il controllo respiratorio dei livelli ematici di  $CO_2$ .

La  $CO_2$  è eliminata dai polmoni e gli  $H^+$  che si sono formati vengono convertiti nuovamente ad acqua mentre gli acidi non volatili vengono escreti dai reni sottoforma di solfato e fosfato. I polmoni non secernono acidi ma eliminano la  $CO_2$  in quanto se questa venisse trattenuta porterebbe all'acidemia. Quando degli acidi quali ad esempio il lattico sono aggiunti al sangue spostano a sinistra l'equazione



dando luogo alla formazione di  $CO_2$  ed  $H_2O$ . La rimozione di questa  $CO_2$  nei polmoni limita l'acidemia. La quantità totale di acidi non volatili, definiti anche metabolici, che viene prodotta giornalmente nell'organismo dei mammiferi supera le 50 mmol che devono essere eliminate. I reni sono in grado

di eliminare solo gli acidi non ionizzati che però rappresentano solo una modesta porzione di quelli prodotti, la maggior parte si ionizzano andando ad alterare il pH del sangue [6].

### 2.2.10 Funzioni metaboliche

Il polmone offre un contributo significativo alla clearance dell'intero organismo da farmaci e xenobiotici. Il polmone contiene enzimi idrolitici che scindono i peptidi come la bradichinina, inattivandola e l'angiotensina I, biattivandola. Altri enzimi polmonari sono in grado di eliminare i gruppi fosfati dai nucleotidi (adenosina trifosfato, adenosina bifosfato, e adenosina monofosfato), di ossidare gli ormoni steroidei come il testosterone, di inattivare le prostaglandine E e F, e metabolizzare ammine biogene come norepinefrina, tiramina e 5-idroositriptamina. L'attività enzimatica responsabile è concentrata all'interno dell'endotelio dei capillari polmonari o in invaginazioni della membrana plasmatica di queste cellule [6].

### 2.2.11 Meccanismi di Difesa

Nell'arco della giornata una grande quantità di aria giunge ai polmoni, trasportando con sé materiale corpuscolato e agenti infettivi. Il polmone si avvale di numerosi meccanismi di difesa per mantenere sterile l'ambiente. La presenza di peli a livello delle narici assicura una prima difesa contro le particelle più grossolane sospese nell'aria inspirata.

L'aria lungo il suo percorso verso i polmoni incontra molte deviazioni (turbini, setto e pareti del rinofaringe) ed è quindi costretta a cambiare continuamente direzione. Per questo motivo le particelle sospese, aventi diametro superiore ai 10  $\mu\text{m}$ , vanno ad urtare a causa della loro inerzia, le superfici di tali ostacoli rimanendo adese allo strato di muco. Le particelle che hanno un diametro compreso tra 2 e 5  $\mu\text{m}$ , possono invece penetrare più profondamente fino a raggiungere i piccoli bronchi. Le particelle di dimensioni ancora più piccole diffondono in direzione delle pareti degli alveoli e aderiscono allo strato di fluido che le riveste [10]. Il meccanismo primario per rimuovere queste particelle e mantenere sterile l'ambiente polmonare è rappresentato dall'apparato mucociliare che rimuove i corpi particolati dal polmone ad una velocità di circa 21 mm/min [11]. Le cellule ciliate che tappezzano le vie aeree sono responsabili dell'allontanamento dal polmone del muco prodotto dalle cellule globose. Il battito ciliare è coordinato e unidirezionale verso la faringe. La bassa viscosità del fluido supporta uno strato di gel che protegge la mucosa dal disseccamento e intrappola le particelle inalate. Il muco contiene immunoglobuline capaci di neutralizzare batteri e virus penetrati. Altri

meccanismi di difesa sono rappresentati da riflessi mediati dal vago, che a seguito di uno stimolo irritativo, determinano il riflesso della tosse e la concomitante broncocostrizione.

#### IMMUNOGLOBULINE

Nella mucosa dell'apparato respiratorio sono abbondanti le immunoglobuline IgA responsabili dell'immunità locale [12]. Questi anticorpi sono prodotti dalla lamina propria della mucosa e le IgA, in forma dimera (IgAS), vengono trasportate attraverso l'epitelio in direzione del lume. Le IgAS non fissano il complemento e non favoriscono la fagocitosi dei microrganismi con cui hanno reagito; pertanto la loro funzione è quella della immunoescissione, cioè l'allontanamento dell'antigene senza il coinvolgimento della reazione sistemica. La presenza di IgE nel polmone è associata a patologie di origine allergica. L'aumento di permeabilità capillare, che avviene in corso di infezioni, permette il passaggio di proteine sieriche dal sangue all'alveolo, spiegando così la presenza di IgG e IgM nel polmone [10].

#### MACROFAGI ALVEOLARI

Il più importante sistema difensivo innato del polmone è rappresentato dall'insieme dei macrofagi alveolari, una popolazione di cellule fagocitarie che si trovano nelle porzioni terminali delle vie aeree e negli alveoli. I macrofagi alveolari migrano continuamente nel lume bronchiale ove si lasciano trasportare dallo strato di muco. Le particelle depositate sulla superficie sono eliminate dai macrofagi alveolari. Questi sono anche presenti nel tessuto linfoide associato all'apparato respiratorio (BALT) [10]. Secondo alcuni autori, anche le cellule dendritiche svolgono un ruolo centrale nella risposta immunologica specifica, ma il meccanismo è ancora in gran parte sconosciuto [13].

#### TESSUTO LINFOIDE

Nel tratto respiratorio i linfociti si possono trovare: liberi nel lume, intraepiteliali, isolati nella lamina propria, infiltrati formanti tessuti linfoide. Sono presenti anche noduli linfoidei. I linfociti e gli altri leucociti sono normalmente presenti in una certa quantità nel polmone sano, ma possono aumentare il loro numero in corso di patologie.

In tutte le parti del tratto respiratorio sono presenti i linfociti intraepiteliali e della lamina propria. I linfociti intraepiteliali predominanti nel polmone equino sono i linfociti T CD3<sup>+</sup>, mentre le cellule CD8<sup>+</sup> sono abbondanti soprattutto nell'epitelio bronchiale. È risaputo che la densità di cellule T nell'epitelio varia in funzione dell'età e della localizzazione. Il numero di cellule intraepiteliali decresce progressivamente lungo tratto respiratorio, dalla

trachea alle basse vie. Nei puledri e nei giovani cavalli si contano un numero inferiore di cellule T rispetto al cavallo adulto. La differenza tra età e sito nel numero di cellule T è il risultato dell'esposizione ad antigeni che stimolano la produzione o infiltrazione di queste cellule nel polmone. I linfociti predominanti nella lamina propria sono le plasmacellule, responsabili della produzione di IgAS. I noduli linfatici sono particolarmente abbondanti in siti specifici dove le particelle vanno a urtare (laringe e nasofaringe) e insieme costituiscono il tessuto linfoide associato al naso (NALT). Questo è ben sviluppato nel cavallo e svolge un importante ruolo nella protezione contro patogeni delle vie aeree superiori (virus influenza e *Streptococcus* sp.). Il tessuto linfoide e i noduli del tratto respiratorio degli equini assomiglia al tessuto linfoide associato ai bronchi (BALT) delle altre specie, eccetto che si estende molto più distalmente nel cavallo. La presenza di neutrofilii nelle vie aeree è spesso patognomonico di patologie delle vie aeree [10].

#### RISPOSTA IMMUNITARIA

La penetrazione di patogeni comporta una rapida mobilitazione di leucociti dal tessuto linfoide al lume. La risposta iniziale ad un'infezione acuta si manifesta con neutrofilia e linfopenia. Negli stadi iniziali è stata evidenziata un'attività citotossica non specifica. Successivamente l'afflusso di linfociti CD8<sup>+</sup> coincide con l'attività di cellule T citotossiche antigene specifiche. Quest'ultime cellule sono coinvolte nell'eliminazione delle cellule infette dal virus. La risposta infiammatoria all'invasione di antigeni è una componente importante e necessaria per la difesa del polmone, ma il cronicizzarsi di tale processo può divenire patologico.



## CAPITOLO 3

# PATOLOGIE DELLE VIE AEREE PROFONDE

*In questo capitolo verranno descritte le patologie delle vie aeree responsabili del calo del rendimento atletico, dell'interruzione dell'allenamento e del prematuro ritiro dalle competizioni sportive. L'infiammazione delle vie aeree e l'emorragia polmonare sono le più comuni patologie delle vie aeree profonde che colpiscono giovani cavalli atleti, mentre l'ostruzione delle vie aeree colpisce soprattutto cavalli di mezza età.*

### **3.1 Infiammazione delle vie aeree (*Inflammatory Airways Disease IAD - Small Inflammatory Airway Disease SAID*)**

La IAD/SAID è una delle cause più frequenti di scarso rendimento, di interruzione degli allenamenti e di prematuro ritiro dall'attività sportiva e si presenta con un'incidenza del 22–50% nei giovani purosangue e trottatori in allenamento [14][15][16][17]. Questa patologia è definita come una flogosi infettiva e non, delle basse vie (bronchi e bronchioli); la sua eziologia non è ancora ben chiara ed i fattori di rischio sono molteplici.

#### **Eziopatogenesi**

Gli allenamenti o l'esercizio intenso possono provocare un abbassamento dell'attività difensiva delle vie respiratorie profonde attraverso la depressione dell'attività macrofagica alveolare, l'alterazione leucocitaria e l'aumento del

cortisolo ematico. A questi fattori si associa la possibile inspirazione di aria fredda che diminuisce l'attività ciliare, riducendo secondariamente le difese locali dell'albero bronchiale. Inoltre l'aria inspirata può veicolare polveri e/o agenti infettivi [18]. Probabilmente a causa di questi fattori che il numero dei neutrofili nel lavaggio tracheale è maggiore nei cavalli sportivi rispetto a quelli non utilizzati in competizioni [19].

Anche il trasporto ha un'azione negativa sull'attività macrofagica alveolare, infatti i numerosi spostamenti provocano uno stato di stress nell'animale che reagisce con il rilascio di cortisolo, ormone dall'attività immunosoppressiva. Inoltre la posizione della testa, tenuta obbligatoriamente alta durante il viaggio, non solo facilita il passaggio di polveri e/o agenti infettivi, ma diminuisce anche la possibilità di espettorare muco e agenti patogeni in esso intrappolati [20] [21].

Per taluni Autori non sembra esistere una correlazione tra le infezioni virali e la IAD; questa affermazione è supportata dal fatto che:

1. in Australia, Paese indenne da influenza, l'incidenza di IAD è la stessa che in Europa,
2. non esiste una relazione tra febbre e IAD [22],
3. non si è dimostrata una concomitante presenza di virus respiratori (isolamento virale e sierologia) e IAD [14][22][23][24].

È possibile ipotizzare che l'azione del virus alteri le difese polmonari danneggiando l'epitelio respiratorio, il tessuto linfatico presente nella mucosa respiratoria e la funzionalità dei macrofagi alveolari. Inoltre, alcuni virus (EHV-1, EHV-4, virus dell'Arterite virale) sono in grado di determinare infezioni persistenti delle vie respiratorie ed una conseguente reazione infiammatoria di tipo immunomediato [25]. Questa ipotesi spiega l'alta incidenza di IAD nei cavalli giovani che, a causa dei numerosi spostamenti e dei contatti con altri cavalli durante la stagione di gara, presentando un sistema immunitario non ancora completamente sviluppato, sono maggiormente esposti a virus respiratori (Influenza, Adenovirosi, Rinopolmonite, Arterite virale) [25].

Alcuni Autori non ritengono importante il ruolo dei batteri nell'eziopatogenesi della IAD per i seguenti motivi:

1. soltanto in un terzo dei casi di IAD sono stati isolati batteri [26],
2. la presenza di batteri nelle vie respiratorie può essere causata da una diminuzione dell'attività ciliare piuttosto che da un'infezione primaria,

3. la trachea non è un ambiente sterile, infatti anche nel 8-25% dei soggetti sani si possono isolare batteri potenzialmente patogeni e nel 75% batteri saprofiti [27][28],
4. i trattamenti con corticosteroidi o interferone per via inalatoria possono predisporre ad una proliferazione di batteri opportunisti dell'albero bronchiale [29][15][30].

Altri Autori [24][31][32] hanno dimostrato che lo *S. pneumoniae* e *S. zooepidemicus* rivestono un ruolo importante nell'eziopatogenesi della IAD nei soggetti giovani. Attraverso questi studi condotti su PSI è stata dimostrata una correlazione statisticamente significativa tra infezione tracheale con *S. pneumoniae*, *S. zooepidemicus*, *Pasteurella/Actinobacillus* spp., *Mycoplasma equirhinitis*, *M. felis* ed *Herpesvirus* 1 e 4, e IAD. L'associazione tra *S. pneumoniae/zooepidemicus* e IAD è indipendente da una precedente infezione virale, ma dipendente dal numero di batteri isolati. L'isolamento di *S. pneumoniae* è significativo solo nei soggetti di 2 anni o più giovani. Infine la prevalenza di IAD e delle infezioni da *S. pneumoniae* e da *S. zooepidemicus* diminuisce all'aumentare dell'età, probabilmente in relazione all'acquisizione di immunità.

Il processo rigenerativo dell'epitelio respiratorio dopo un'infezione virale, richiede un lasso di tempo di circa tre settimane, ma ai soggetti in allenamento raramente viene concesso un periodo di convalescenza di tale durata. L'incompleta remissione del processo infiammatorio delle vie aeree predispone ad una maggiore sensibilità della mucosa bronchiale nei confronti di polveri, spore fungine, pollini, gas ed altre sostanze irritanti normalmente presenti nell'ambiente dove il soggetto vive.

E' stato osservato infatti che soggetti stabulati su paglia si ammalano più facilmente di IAD e guariscono più lentamente rispetto a quelli stabulati su lettiera di carta; stessa differenza si verifica tra cavalli alloggiati in stalle con cattiva aerazione rispetto a quelle ben ventilate [33][22][34]. Per questi motivi sono importanti le norme igieniche ed il *management* del soggetto al fine di diminuire il rischio di contrarre la malattia ed accelerare i processi di guarigione.

L'alterazione delle difese polmonari, l'esposizione a sostanze irritanti e gli episodi ripetuti di EIPH, non solo possono predisporre i soggetti da competizione a processi flogistici cronici (IAD/SAID, COPD/RAO), ma possono anche favorire l'insorgenza di episodi pneumonici e pleuropneumonici acuti ad eziologia batterica, che causano periodi prolungati di recupero, lesioni polmonari permanenti e prematuro ritiro dalle competizioni (vedi § 3.4) [35]. L'infiammazione è meno grave se paragonata alla COPD/RAO, sebbene alcuni Autori ritengano che la IAD rappresenti la fase iniziale nella patogenesi del-

la COPD [36][37]. Rispetto alla COPD/RAO, la IAD/SAID colpisce soggetti giovani e l'anamnesi riferisce una forma respiratoria che non ha risposto agli antibiotici e/o una malattia infettiva pregressa e/o scarso rendimento atletico.

### Sintomatologia

La IAD si presenta in genere in forma subclinica e gli unici sintomi evidenti sono rappresentati da tosse e scarso rendimento atletico [6]. Talvolta la tosse viene accompagnata da scolo nasale e in assenza di febbre questi sintomi possono essere indicativi di IAD, ma allo stesso tempo non sono patognomonici [22].

### Elementi diagnostici

Per alcuni Autori la tosse è un indice poco sensibile, ma molto specifico di IAD presente solo nel 38% dei casi, mentre l'85% dei soggetti con tosse e apiressia presentano IAD [22][38][23].

Anche la quantità di muco presente in trachea sembra essere in relazione con la patologia. All'esame endoscopico solitamente i cavalli sani non presentano muco, che se presente risulta sottoforma di poche gocce isolate. Viceversa i soggetti con IAD hanno una quantità significativa di muco in trachea soprattutto a livello della sua entrata nel torace, o in maniera più diffusa come una stria continua di larghezza variabile [14][26]. Alcuni Autori hanno dimostrato una stretta relazione tra tosse e quantità di muco, iperplasia faringea e/o isolamento batterico e alterazione dei valori emogasanalitici del sangue arterioso [26][39][23][19][40].

L'auscultazione risulta spesso nella norma, anche con *rebreathing bag*. L'ematologia e la biochimica non si rivelano utili per la diagnosi di IAD. L'esame radiografico del torace può rilevare *patterns* bronchiale, broncointerstiziale o interstiziale di lieve o media entità, anche se la gravità di una patologia polmonare diffusa non è correlabile ai *patterns* radiografici. La diagnosi è endoscopica e citologica [41][16][42].

La IAD si manifesta con un quadro infiammatorio delle basse vie aeree alquanto polimorfo, al contrario della COPD/RAO che è caratterizzata da una intensa flogosi di tipo neutrofilico. Questa importante differenza viene rilevata all'esame citologico del BAL. Un aspetto su cui tutti gli Autori concordano riguarda l'aumento del numero totale di cellule infiammatorie nella IAD ( $> 300/\mu\text{l}$ ) [43][29][44] al contrario, in corso di COPD il numero totale di cellule nel BAL rimane invariato [35]. L'elevata conta cellulare è associata allo stato di ipossia arteriosa che si instaura durante l'esercizio massimale,

e l'aumento di intensità del lavoro è correlato positivamente con il grado di aumento di cellule nella conta totale [16]. Sono state proposte diverse classificazioni citologiche di IAD [43][36][45][46][47][48][16], ma tuttora l'argomento è controverso.

### Flogosi mista

L'infiammazione mista è la forma più comune di IAD nei cavalli sportivi ed è caratterizzata dal riscontro nel BAL di un aumento totale delle cellule nucleate, lieve neutrofilia (5–20% delle cellule totali), linfocitosi e monocitosi [29][44][46][48][16]. L'analisi del BAL rivela una diminuzione del numero di linfociti T helper (CD4 positivi), linfociti T (CD5 positivi) e linfociti B. La linfocitosi sembrerebbe dovuta ad un aumento della popolazione di cellule Natural Killer (non-B e non-T): ciò avvalorava l'ipotesi che le infezioni virali respiratorie rappresentino un fattore essenziale per lo sviluppo di questa forma di IAD [43]. Queste osservazioni permettono di differenziare ulteriormente la IAD dalla COPD/RAO, in quanto in quest'ultima si osserva linfopenia ed aumento dei linfociti CD5 positivi/CD8 negativi (considerati linfociti T helper). Le differenze nel profilo citologico tra le due affezioni suggeriscono una possibile divergenza nella loro patogenesi [49].

### Flogosi mastocitaria

L'aumento del numero di mastociti (>2%) nel fluido del BAL gioca un ruolo importante nella fisiopatologia dei primi stadi delle reazioni di ipersensibilità polmonare attraverso il rilascio di mediatori della flogosi (istamina, leucotrieni, prostaglandine, ecc.) dopo esposizione all'antigene.

L'infiammazione mastocitaria rappresenterebbe una reazione di ipersensibilità di tipo I, tipica dei fenomeni allergici, e presumibilmente identifica la forma clinica iniziale di IAD capace di evolvere in COPD/RAO [46][48].

### Flogosi eosinoflica

Un aumento del numero degli eosinofili nel fluido del BAL può accompagnare un processo infiammatorio delle basse vie aeree a differente eziologia ed essere espressione di una risposta locale riferibile ad una reazione di ipersensibilità di tipo I. In sede di diagnosi differenziale devono essere naturalmente escluse le infestioni parassitarie polmonari (*Dictyocaulus arnfieldi* o larve migranti di ascaridi) [46][48].

## **Flogosi neutrofilica**

Ferrucci et al nel 2000 [46] hanno proposto un nuovo tipo di classificazione della IAD che prevede, oltre all'identificazione delle 3 forme della patologia precedentemente descritte, anche una di tipo neutrofilico caratterizzata da un'elevata quantità di neutrofili. In tabella 3.1 sono mostrati i risultati ottenuti.

### **Terapia e profilassi**

Sia per la prevenzione che per la terapia è essenziale ridurre durante il periodo di trattamento l'intensità dell'allenamento o comunque dell'attività fisica e controllare i fattori igienico-ambientali. I soggetti dovrebbero essere tenuti per lunghi periodi in paddock e alimentati con erba o fieno bagnato; se questo non fosse possibile, le scuderie dovrebbero essere aerate in modo da ridurre la polvere ed anche i gas come l'ammoniaca che risultano irritanti delle vie aeree. La lettiera dovrebbe essere depolverata o in carta e gli alimenti dovrebbero essere di buona qualità ed ipoallergenici, come ad esempio i pellettati. Il fieno non dovrebbe essere stoccato nelle vicinanze dei box dove vengono ricoverati i cavalli e a maggior ragione questo non deve essere posto sopra di essi [50][51].

Il tipo di flogosi individuato attraverso l'esame citologico del BAL permette di orientare il protocollo terapeutico in modo da ridurre il numero totale di cellule infiammatorie e stimolare il ritorno ad un quadro citologico polmonare normale [46].

La maggior parte dei farmaci impiegati nella terapia della IAD può essere somministrata per via inalatoria. Questo comporta l'innegabile vantaggio di ottenere un'efficace azione terapeutica locale e contemporaneamente di ridurre gli effetti collaterali ed i tempi di sospensione dei farmaci impiegati. Inoltre l'aerosol-terapia presenta una sicurezza ed efficacia maggiori rispetto alla terapia tradizionale per via sistemica, in quanto non vengono coinvolti gli organi emuntori e si ha un'azione diretta sull'apparato respiratorio ed una risposta più rapida. Inoltre il cavallo è un paziente ottimale per l'aerosol-terapia in quanto è di indole collaborativa ed ha le caratteristiche anatomo-fisiologiche ottimali (narici larghe, respirazione nasale obbligatoria, lenta e ampia) [52].

Il riscontro di flogosi mastocitaria suggerisce l'impiego di farmaci stabilizzatori di membrana (cromoglicato di sodio, sodio nedocromile) che impediscono il rilascio di mediatori della flogosi in seguito alla degranolazione dei mastociti. Sebbene il ruolo dei mastociti nella IAD non sia ancora stabilito, la somministrazione 20–30 minuti prima dell'inalazione di antigeni previene la broncocostrizione [52].

	n	Mac	Linf	PMN	EO	MC	TC
IAD eosinoflica	7 (10,0%)	39,3 ± 10,9	52,4 ± 7,9	1,7 ± 1,9	6,0 ± 5,7	0,4 ± 0,8	> 300/ $\mu$ l
IAD neutrofilica	11 (15,7%)	42,7 ± 16,0	49,4 ± 17,9	7,7 ± 5,2	0	0,2 ± 0,6	> 300/ $\mu$ l
IAD mastocitaria	20 (28,6%)	44,3 ± 18,0	49,5 ± 18,8	0,1 ± 0,3	0	6,0 ± 2,9	> 300/ $\mu$ l
IAD mista	32 (45,7%)	40,4 ± 13,0	49 ± 14,7	4,2 ± 3,7	2,2 ± 4,0	6,0 ± 4,4	> 300/ $\mu$ l
Valori normali		40-70%	30-60%	<5%	<0,5%	<2%	< 300/ $\mu$ l

Tabella 3.1: Classificazione IAD secondo Ferrucci et al, 2000 [46]. Mac: Macrofagi; Linf: Linfociti; PMN: Neutrofil; EO: Eosinofili; MC: Mast-cell; TC: Conta Cellulare Totale.

Quando il risultato dell'esame citologico del BAL evidenzia una conta differenziale eosinofila elevata (IAD eosinofila) si rende invece necessario il trattamento a base di corticosteroidi (beclometasone dipropionato, fluticasone, prednisone) [16]. L'aerosol è il metodo ottimale per la somministrazione di corticosteroidi per l'alto numero di recettori a livello di epitelio bronchiale e di endotelio vascolare; con la terapia inalatoria si ottiene la concentrazione massimale di farmaco nel distretto da trattare e con minimi effetti collaterali. La terapia cortisonica mediante aerosol è la scelta obbligata qualora risulti necessario un trattamento prolungato nel tempo [53].

In corso di IAD in forma mista, ai trattamenti sopra citati, può essere associata la somministrazione di immunomodulatori per via orale come l' $\alpha$ -interferone (INF- $\alpha$ ) o estratti batterici [15]. L'INF- $\alpha$  risulta indicato quando si sospetta un'origine virale della IAD, questa sostanza induce uno stato antivirale nelle cellule bersaglio dell'ospite stimolando la produzione di enzimi che inibiscono la sintesi delle proteine virali e degradano l'RNA virale. L'INF incrementa l'immunità non specifica potenziando l'attività fagocitaria di macrofagi e l'attività citotossica dei natural killer e linfocine attivate.

Moore nel 1996 [54] ha verificato che la media della conta cellulare, e in particolare dei neutrofili e dei linfociti, nel BALF era significativamente più bassa rispetto a quella di cavalli a cui era stato somministrato un placebo; mentre risultava invariata la conta dei mastociti e degli eosinofili.

Moore ha anche messo in evidenza che la somministrazione orale di basse dosi di INF (50 U) è sufficiente per ridurre la quantità di essudato nel tratto respiratorio e per convertire la conta totale delle cellule ad un profilo di tipo non infiammatorio. Alte dosi invece risultano avere un minimo effetto sulla riduzione dell'infiammazione delle vie aeree nel cavallo affetto da IAD, in quanto si genera una risposta di tipo autodistruttivo delle cellule ospiti [55]. Nel 2004 è stato condotto uno studio sull'efficacia terapeutica dell'INF su 34 cavalli che presentavano all'esame clinico scolo nasale, tosse da 2 settimane e abbondante muco in trachea. Sono stati inizialmente messi a riposo per 1 settimana e successivamente trattati con INF umano naturale o ricombinante alle dosi di nHIA: 50U e rHIA: 90U per 5 giorni. Dopo 4 settimane contrariamente al gruppo non trattato, non manifestavano più la tosse [56].

Poichè la flogosi è spesso accompagnata da broncocostrizione, può essere utile impiegare farmaci con azione broncodilatatoria (ipratropium bromuro, salmeterolo, formoterolo) per via inalatoria. Nel caso di isolamento batterico alle terapie sopra indicate deve essere associata la somministrazione di antibiotici a largo spettro, oppure specifici se è stato effettuato un antibiogramma.



### 3.2 Pneumopatia cronica ostruttiva (*Chronic Obstruction Pulmonary Disease* COPD - *Recurrent Airway Obstruction* RAO)

La COPD/RAO è un'affezione di natura allergica a carattere cronico e ricorrente, caratterizzata da broncocostrizione, produzione di muco ed infiammazione neutrofilica delle piccole vie aeree. Viene scatenata dall'esposizione ad allergeni quali spore fungine, endotossine, polvere o altri allergeni presenti nella paglia e nel fieno [57][51][58][59][16], con un intervallo di tempo che va da 5 ore a 2 giorni [60][61].

#### Eziopatogenesi

Sembra che le infezioni virali predispongano allo sviluppo della COPD/RAO, con lo stesso meccanismo che si instaura nei soggetti asmatici. Nell'uomo durante l'infezione virale si ha la produzione di IL-10 da parte dei macrofagi; l'IL-10 favorisce la secrezione di citochine tipo Th2 da parte dei linfociti, promuovendo così la sintesi di IgE e l'aumento di eosinofili nelle vie respiratorie. Questo fenomeno è al momento in fase di studio, ma la produzione di IL-10 potrebbe avere un ruolo nello sviluppo di COPD/RAO dopo l'infezione virale [37][51]. È stato anche studiato il ruolo dei prodotti derivati dall'acido arachidonico, ma i risultati sono contrastanti. Il trombossano A2 (TBX 2) aumenta nel fluido del BAL nei soggetti patologici, ma l'inibizione della sua sintesi con FANS non influenza l'evoluzione della malattia [62]. Poiché la terapia con antileucotrieni (LT) nell'uomo asmatico ha un'ottima risposta, è stato verificato il ruolo dei LTD4 e LTB8 anche nella COPD/RAO. In effetti l'azione broncocostrittiva di queste sostanze è stata confermata anche nel cavallo [63][64], ma l'azione degli anti-LT è stata verificata solo in vitro e non in vivo nel cavallo [65]. Da uno studio di Lindberg [66], si evince che i LT sembrano essere prodotti non dal parenchima polmonare, ma dalle cellule infiammatorie che si accumulano nel polmone secondariamente allo stato infiammatorio del parenchima polmonare. In questo studio, infatti, sono stati raccolti campioni di parenchima polmonare di soggetti malati e sani e su tali campioni è stata dosata la concentrazione di LTB4. Dalle analisi risulta che il parenchima polmonare del cavallo non è in grado di produrre autonomamente il LTB4, pertanto gli Autori hanno ipotizzato una possibile produzione di LTB4 dai neutrofili reclutati localmente.

La COPD/RAO è la patologia cronica più comune nei soggetti che vivono in box, con lettiera in paglia e alimentati con fieno; la prevalenza è variabile

ma può arrivare all'80% della popolazione [67][68][69][70][51].

Il ruolo della polvere nella patogenesi della COPD/RAO è stato a lungo investigato e sembra essere confermato. I costituenti della polvere sono in relazione alla lettiera e all'alimento somministrato; per quest'ultimo è molto importante la metodologia di conservazione [50]. Il fieno può essere classificato in ottimo, medio o scarso in base al tipo e al numero di spore fungine; in particolare i funghi considerati importanti nell'eziopatogenesi della COPD/RAO sono l'*Aspergillus fumigatus*, *Thermoactinomyces* e *Farnia rectivirgula* [71][72][50][51].

### Sintomatologia

I soggetti colpiti hanno un'età media di 9 anni e manifestano segni clinici variabili in base alla sensibilità individuale all'antigene. Nei giovani cavalli da corsa la COPD/RAO è relativamente rara, mentre nei soggetti più anziani le forme iniziali o sub-cliniche rappresentano una importante causa di scarso rendimento atletico. I sintomi vanno da scarso rendimento nei casi lievi a grave dispnea evidente anche a riposo [16].

I segni clinici sono causati dall'aumento delle resistenze intrapolmonari secondarie al broncospasmo, che portano ad una difficoltà espiratoria. La broncocostrizione in corso di RAO non si localizza ad una porzione del polmone, ma è un fenomeno diffuso [51].

Un altro fattore che contribuisce all'ostruzione delle vie respiratorie è l'accumulo di muco nell'albero respiratorio. In corso di COPD/RAO aumentata la produzione di muco e ne diminuisce la clearance e la viscoelasticità [73].

Nei casi conclamati si evidenzia tosse, scolo nasale, aumento della fase espiratoria e perdita di peso. Lo sforzo respiratorio si evidenzia con la dilatazione delle narici, la contrazione addominale durante la fase espiratoria e l'aumento della frequenza respiratoria, anche se quest'ultima risulta poco frequente [70].

Le caratteristiche del respiro si modificano in modo da avere una fase inspiratoria rapida ed una fase espiratoria prolungata e forzata. In particolare, la fase espiratoria è bifasica, con un rapido collasso del torace seguito da una contrazione verso l'alto dell'addome, tanto più marcata quanto è più grave il processo. È possibile rilevare l'ipertrofia del muscolo obliquo dell'addome [51][16] (vedi immagine 4.1).

### Elementi diagnostici

All'auscultazione il murmure vescicolare è aumento di intensità ed si percepisce la presenza di sibili espiratori; alla percussione il suono è soprachiaro a causa dell'accumulo di aria all'interno del polmone, con spostamento caudale dei limiti polmonari. L'aumento del murmure è dovuto all'incremento della pressione intrapleurica necessario a far uscire l'aria dai bronchi costretti; questo evento causa l'aumento della velocità dell'aria stessa e quindi le turbolenze avvertite come aumento dei suoni polmonari all'auscultazione [51][16].

L'ematologia e la biochimica non sono utili per la diagnosi; le radiografie toraciche sono indicate solo nel caso in cui i soggetti non rispondano a terapia specifica per COPD/RAO, se presentano un maggiore sforzo inspiratorio che espiratorio (possibile interessamento interstiziale del polmone o fibrosi polmonare) e se hanno febbre (infezione virale, batterica, fungina). L'esame radiografico di un soggetto con COPD/RAO evidenzia campi polmonari aumentati per sovraespansione ed infiltrazioni peribronchiali [16].

In questi casi per la diagnosi è molto importante il ricorso al BAL in quanto è possibile identificare l'intensa flogosi neutrofilica (60–70% di neutrofili nella conta differenziale) caratteristica di questa affezione e la bassa conta totale (<300 cellule/ $\mu$ l) rispetto ad altre patologie delle basse vie (ad esempio IAD) [35]. Alcuni Autori ritengono che la neutrofilia sia una risposta immunologia specifica all'antigene da assimilare all'aumento degli eosinofili che si ha nell'asma dell'uomo [9]. Bisogna però affermare che un certo grado di neutrofilia si può presentare anche in soggetti sani che vivono per un certo periodo in ambienti con allergeni [74][75]. In uno studio condotto sui PSA gli Autori hanno evidenziato una neutrofilia nel BAL maggiore nei soggetti stabulati in box rispetto a quelli tenuti al pascolo [76]. Anche l'esposizione a funghi e/o tossine provoca un aumento dei neutrofili nel BAL [74][77][34][78]. Talvolta è possibile osservare nell'esame citologico del BAL le spirali di Curschmann che rappresentano impronte di muco e cellule delle piccole vie aeree [16].

Art e collaboratori nel 2006 [79] hanno dimostrato che soggetti affetti da COPD/RAO tenuti al pascolo per almeno due mesi presentano una percentuale di neutrofili nel BAL simile a quella dei soggetti sani. Gli Autori hanno anche dimostrato che la concentrazione di mieloperossidasi nel surnatante del BAL rimane comunque più elevata nei soggetti malati, sia in una fase di crisi che in remissione, rispetto ai sani. Quindi si potrebbe utilizzare il dosaggio della concentrazione di mieloperossidasi nel BAL come marker della presenza di neutrofili nei soggetti clinicamente sani, ma comunque affetti da COPD/RAO.

In un recente studio gli Autori hanno studiato l'effetto della procedura del

BAL sui meccanismi della respirazione in soggetti affetti da COPD/RAO. Gli Autori hanno evidenziato che il BAL induce una significativa diminuzione delle resistenze polmonari fino a 6 ore dopo probabilmente in relazione all'asportazione del muco dai grossi bronchi [80].

### Terapia e profilassi

La terapia in corso di COPD/RAO è basata sulla somministrazione di corticosteroidi per via sistemica o inalatoria e di broncodilatatori. La somministrazione di corticosteroidi per via parenterale presenta numerosi effetti collaterali quali l'insorgenza di laminite, ritenzione di sodio [51] o più raramente l'insorgenza di polmonite batterica [81].

L'approccio classico consiste nella somministrazione del farmaco per via sistemica per periodi lunghi [82] in quanto terapie brevi non migliorano né la sintomatologia clinica, né la funzionalità polmonare e neppure la citologia del BAL [83][84], in particolare se si utilizza prednisone.

La terapia di breve durata può essere instaurata con desametasone (0,04–0,1 mg/Kg IV, IM o per os) in quanto la funzionalità polmonare migliora significativamente in 3 giorni e risulta simile a quella di soggetti tenuti al pascolo dopo 7 giorni di somministrazione [85][82][75].

La via IM viene utilizzata per formulazioni *long-acting* che permettono trattamenti con dose di 0,04 mg/Kg ogni 3 giorni, efficaci per il miglioramento della funzionalità polmonare e per la diminuzione dell'incidenza degli effetti collaterali, ma non per la risoluzione dell'infiammazione delle basse vie [82]. Una singola dose di triamcinolone (0,09 mg/Kg im) incrementa la funzionalità respiratoria e la mantiene tale per circa 3 settimane [86]. La somministrazione di corticosteroidi per via inalatoria diminuisce l'incidenza di effetti collaterali e risulta comunque efficace nel trattamento della COPD/RAO [83][87][88][89][53].

La comparazione dell'efficacia dei corticosteroidi utilizzati per via inalatoria risulta difficile per il fatto che negli studi scientifici sono stati utilizzati diversi inalatori; comunque il beclometasone ed il fluticasone sembrano essere le molecole più efficaci [83][87][89]. Di solito sono necessari dai 3 ai 7 giorni per ottenere un miglioramento clinico.

Alla terapia con corticosteroidi vengono associati con successo i broncodilatatori. Questi sono somministrati nel momento acuto per alleviare la sintomatologia clinica e l'ipossia; possono anche essere somministrati prima dei corticosteroidi per incrementare la distribuzione di questi ultimi. I broncodilatatori ad azione prolungata possono essere associati ai corticosteroidi per diminuire la dose di questi ultimi. La somministrazione di broncodilatatori è controindicata nei soggetti tenuti in ambienti con alta concentrazione di al-

lergeni perché aumenta la probabilità di penetrazione di questi nelle basse vie [51]. I broncodilatatori maggiormente utilizzati nel cavallo sono i  $\beta_2$ -agonisti, gli anticolinergici e le metilxantine.

Non è provata l'efficacia di mucolitici o di soluzione salina nebulizzata in cavalli con COPD/RAO come pure l'iperidratazione mediante somministrazione endovenosa di grandi volumi di liquido [90].

### 3.3 Emorragia polmonare da sforzo (*Exercise-Induced Pulmonary Hemorrhage EIPH*)

L'EIPH è una patologia maggiormente riscontrata nei PSI, Trottatori e Quarter horse [91][92] e il suo manifestarsi è legato all'intensità dell'esercizio più che alla sua durata [93]. Sebbene molti studi hanno evidenziato che non esiste differenza di età nella prevalenza di EIPH, recentemente è stata osservata una maggiore incidenza di epistassi nelle femmine rispetto ai maschi [94]. Inoltre gli animali più vecchi (>5 anni) sembrano essere colpiti con maggior frequenza rispetto ai giovani [95][92][94].

#### Eziopatogenesi

Le diverse ipotesi eziopatogenetiche considerano quali possibili cause di EIPH: l'elevata pressione del circolo polmonare durante lo sforzo massimale, la neovascolarizzazione da parte del circolo bronchiale secondaria a flogosi polmonare, l'ostruzione polmonare, la presenza di differenti ventilazioni in distretti polmonari diversi, i disturbi della coagulazione e nella viscosità ematica e i traumi meccanici secondari alle onde d'urto dovute all'impatto dello zoccolo sul terreno [95][92][96][97][98][99][100][101]. Questi meccanismi possono contribuire all'instaurarsi dell'emorragia, ma non riescono a spiegare la causa primaria del sanguinamento. Questo perché soggetti con profilo coagulativo normale, senza segni di flogosi ed ostruzione polmonari e con viscosità ematica nella norma presentano EIPH. Inoltre la patologia si presenta anche in soggetti che svolgono un esercizio massimale in piscina [93].

Le ricerche più recenti suggeriscono che l'EIPH rappresenti un fenomeno fisiologico dovuto all'incapacità del circolo polmonare di far fronte all'imponente aumento della gittata cardiaca e della pressione intra-capillare, associate all'incremento dello sforzo inspiratorio. Infatti la rapida accelerazione che porta allo sforzo massimale è associata ad un altrettanto rapido aumento della pressione nell'arteria e nei capillari polmonari. Si pensa che, in queste condizioni, la pressione nei capillari polmonari superi la capacità del circolo polmonare

di mantenere l'integrità vascolare, provocando così una "rottura da stress" dell'endotelio capillare e dell'epitelio alveolare [93]. È stato dimostrato che il numero di globuli rossi nel BAL aumenta nei soggetti che hanno una pressione nell'arteria polmonare superiore a 80 mmHg [102][103][93]. Sulla base di questa teoria, patologie che causano aumento della pressione positiva vascolare o della pressione negativa intra-polmonare durante la fase inspiratoria potrebbero incrementare gli episodi di EIPH.

In uno studio sono stati indagati 10 purosangue con EIPH e 10 controlli tramite esame clinico, endoscopia post esercizio delle vie aeree inferiori, esame radiografico del torace, emogas-analisi arteriosa, esami ematologici ed ematochimici (fibrinogeno) e biopsia polmonare trans-cutanea. L'unica anomalia rilevata nei soggetti con severa EIPH è l'alterazione della percussione delle aree dorso-caudali del torace [104]. Studi effettuati *post-mortem* hanno confermato l'interessamento delle porzioni caudo-dorsali del parenchima polmonare dove il flusso ematico è più elevato e le variazioni di pressione alveolare durante il ciclo respiratorio sono maggiori [105][106].

Alcuni Autori sostengono che la EIPH si verifichi secondariamente rispetto a IAD/SAID; questo perché in un focolaio flogistico si verifica una neovascolarizzazione da parte della circolazione bronchiale con una possibile maggiore fragilità dei vasi neoformati. Anche se in realtà potrebbe verificarsi esattamente l'opposto. Recentemente infatti è stato ipotizzato che la presenza di sangue nel parenchima polmonare in seguito alla rottura dei capillari polmonari determini l'insorgenza di flogosi ed ipersensibilizzazione delle vie aeree, bronchiolite e neovascolarizzazione bronchiale con il conseguente instaurarsi di un processo tendente ad autoperpetuarsi [16]. Pertanto, la flogosi delle basse vie aeree e la neovascolarizzazione rappresenterebbero la conseguenza e non la causa di EIPH. Il legame tra EIPH e flogosi infiammatoria è fatto ancora dibattuto, ma sembra che le infiammazioni delle vie basse possano essere sia la conseguenza che il fattore predisponente [107][106][16].

È stato dimostrato che l'instillazione di sangue autologo nel parenchima polmonare instaura una flogosi caratterizzata da iperreattività, fibrosi, infiammazione [108].

### Sintomatologia

L'EIPH si può sospettare in tutti soggetti con calo delle performance, in particolare un rallentamento improvviso durante la corsa; i segni clinici possono essere [95][92][109][101]:

- rumori respiratori, deglutizione durante la corsa;
- epistassi, solo nel 5% dei casi;

- sangue in trachea e bronchi nel 44-75% (solo quando il numero dei globuli rossi nel BALF supera 13.000 cellule/ $\mu$ l);
- emorragia diagnosticabile solo con l'esame citologico del BAL nel 75-100% dei soggetti.

### Elementi diagnostici

La diagnosi si effettua mediante endoscopia post-esercizio e visualizzazione del sangue in trachea; sono stati effettuati studi che valutavano quantitativamente il sangue presente nell'albero bronchiale mediante punteggio. In tabella 3.2 è riportato quello elaborato da Marlin nel 2003.

Punteggio	
1	gocce
2	+ gocce, ma non ancora una stria continua
3	stria continua che occupa – della metà della larghezza della trachea
4	stria continua che occupa + della metà della larghezza della trachea
5	albero bronchiale pieno di sangue

Tabella 3.2: Punteggio per la valutazione quantitativa del sangue presente in trachea secondo Marlin [106].

Nessuno studio ha dimostrato la correlazione tra la gravità della patologia ed il punteggio [93].

Il sangue se presente permane in trachea fino a circa 6 ore dopo l'esercizio fisico.

La diagnosi citologica viene effettuata sulla valutazione del BALF; l'esame collaterale dovrebbe essere effettuato 30-60 minuti dopo l'esercizio. Alcuni Autori hanno proposto di utilizzare il numero di eritrociti raccolti con il BAL per semi-quantificare la gravità della EIPH [102][101], ma questo tipo di valutazione si è dimostrata troppo variabile e non standardizzabile [110][111][112][93].

Anche se non esiste differenza statistica tra il polmone destro e sinistro basandosi sulla valutazione del numero di eritrociti nel BALF, sembra che in uno stesso soggetto l'emorragia sia più marcata sempre in un polmone rispetto all'altro [113]. I globuli rossi rimangono nel BALF per 2 settimane mentre gli emosiderofagi fino per 4-10 settimane dall'episodio di emorragia [102][108], questi ultimi possono essere utilizzati quindi per diagnosticare precedenti episodi [104], anche se è possibile sovrastimare la EIPH.



L'indagine radiografica del torace ha una utilità limitata solo ai casi di media-grave entità (vedi figura 7.4); l'esame ecografico può essere utilizzato per rilevare anomalie a carico dei campi dorso-caudali, ma la sua utilità diagnostica non è stata ancora ben valutata [106].

L'influenza dell'EIPH sulle *performances* trova in disaccordo i ricercatori.

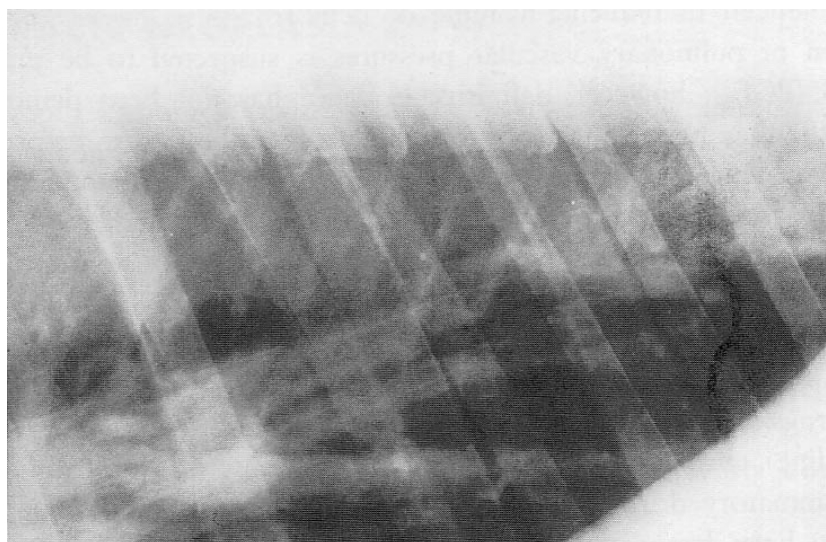


Figura 3.1: Radiografia toracica laterale del campo caudodorsale di un cavallo con EIPH. Si nota l'area di consolidamento polmonare nel sito di emorragia. Immagine da [16].

Sebbene la maggior parte delle ricerche condotte in questo campo non hanno permesso di identificare una relazione diretta tra incidenza e/o gravità dell'EIPH e rendimento atletico [95][92][109], un recente studio ha evidenziato una correlazione positiva tra insoddisfacente prestazione in gara (valutazione delle vittorie e dei piazzamenti) e presenza di sangue all'esame endoscopico nelle vie respiratorie. Gli Autori hanno dimostrato che cavalli con grado 0–1 di EIPH hanno *performances* migliori rispetto a quelli con grado maggiore [114].

### Terapia e profilassi

Lo scopo della terapia non è tanto quello di eliminare gli episodi emorragici, ma quello di ridurre il grado di gravità da 4–5 a 2–3. La furosemide è il farmaco che da oltre 20 anni viene impiegato per il trattamento della EIPH; questo viene somministrato sia per via sistemica che per inalazione



[115][116][106]. L'azione della furosemide sembra essere indipendente dall'effetto diuretico; la somministrazione del farmaco sembra attenuare l'incremento pressorio esercizio-indotto a livello di atrio dx, arteria polmonare e capillari polmonari [117]. Quindi il farmaco non previene l'EIPH, ma riduce la gravità dell'episodio emorragico [16]. La furosemide sembra avere un effetto di vasodilatazione sul circolo polmonare mediato dalle prostaglandine (PGE $2\alpha$ ), nonché un effetto di broncodilatazione, anch'esso mediato dalle PG, quindi la concomitante somministrazione di FANS è controindicata perché inibirebbe l'azione PG-indotta della furosemide [16].

Questo farmaco appare effettivamente in grado di migliorare le *performances* dei cavalli da corsa [118][116]. Sebbene esistano numerosi studi condotti sia dopo somministrazione di furosemide che dopo esercizio, in cui viene applicato lo *scoring system* secondo Marlin [106] e che non hanno evidenziato un miglioramento anche in maniera lieve dell'EIPH [119][93][109]. Si può ipotizzare che questi risultati scaturiscono dal fatto che lo *scoring system* si basa sulla visualizzazione di sangue in trachea, metodo diagnostico che non riesce a evidenziare in tutti i casi l'EIPH, in quanto di frequente la diagnosi è solo citologica [106].

Nel trattamento dell'affezione è stato impiegato un elevato numero di altri farmaci, tra i quali: gli agenti favorenti la coagulazione (vitamina K, acido ossalico, estrogeni, acido aminocaproico), i broncodilatatori (clembuterolo, albuterolo, iatropium), gli antipertensivi (enalapril, etc.), antinfiammatori, ossido nitrico e composti simili. Sebbene la loro efficacia terapeutica non sia stata dimostrata scientificamente ed esistano discordanze tra i vari studi [93][16].

Poiché ripetuti episodi di EIPH possono determinare l'insorgenza di un processo flogistico tendente ad autoperpetuarsi, le possibili strategie terapeutiche sono volte a minimizzare la risposta infiammatoria del parenchima polmonare. Ad esempio, sebbene la somministrazione di corticosteroidi per via inalatoria non impedisca la rottura dei capillari polmonari, essa potrebbe prevenire o ridurre l'entità della flogosi, dell'iperreattività delle vie aeree e della neovascolarizzazione causate dalla presenza di sangue nel parenchima polmonare [120][16].

Recentemente sono stati utilizzati i cerotti nasali per diminuire le resistenze inspiratorie a livello di alte vie stabilizzando le narici. Queste strutture sembrano collassare per il passaggio dell'aria a forte velocità, creando così una pressione negativa inspiratoria ed aumentando la pressione transmurale a livello alveolare [93][106][16]. È stato dimostrato che i cerotti riducono la quantità di globuli rossi nel BALF in media del 44% [121] e 74% e nel 33% dei soggetti affetti da EIPH [16] e la loro efficacia è molto simile a quella ottenuta della somministrazione di furosemide. Quindi è opportuno utiliz-

zare i cerotti nasali in combinazione con la somministrazione di furosemide in modo da ridurre la conta dei globuli rossi nel BALF di circa l'87%. È da ricordare l'importanza del corretto posizionamento del cerotto; infatti spesso nella pratica viene applicato troppo in alto riducendone così l'efficacia [106].

### 3.4 Afezioni di origine infettiva

Una modesta quantità di batteri è normalmente presente nel polmone. Tali batteri, di provenienza orofaringea, sono considerati dei contaminanti transitori che in breve tempo verranno rimossi dai meccanismi di difesa polmonari. Quando questi meccanismi sono compromessi, i batteri possono causare processi patologici.

Molto spesso le polmoniti batteriche nel cavallo adulto sono il risultato di infezioni virali con colonizzazione secondaria da parte di batteri saprofiti od opportunisti.

#### Eziopatogenesi

I cavalli da competizione sono sottoposti a lunghi viaggi, frequenti contatti con soggetti di diversa provenienza ed a molti altri fattori stressanti [122][123], ed appaiono pertanto predisposti al possibile contagio da parte di agenti infettivi virali e batterici [124][120]. Come è stato precedentemente detto, i lunghi viaggi alterano la funzionalità dei macrofagi alveolari e favoriscono l'inalazione profonda di materiale particolato. I contatti con altri cavalli favoriscono l'esposizione ai virus respiratori che danneggiano l'epitelio respiratorio (influenza) ed il tessuto linfatico della mucosa respiratoria (*Herpesvirus*) ed inibiscono la funzionalità dei macrofagi alveolari.

Il processo rigenerativo dell'epitelio respiratorio dopo un'infezione virale richiede un lasso di tempo di circa tre settimane ed ai soggetti in allenamento raramente viene accordato un periodo di convalescenza sufficientemente lungo; la presenza di sangue nel parenchima polmonare in seguito ad episodi di EIPH scatena l'insorgenza di un processo infiammatorio e fornisce un *pabulum* ideale per la colonizzazione batterica [29]. L'alterazione dei meccanismi di difesa del polmone, l'esposizione ad agenti irritanti e la presenza di sangue nelle vie respiratorie possono quindi favorire l'insorgenza di processi broncopneumonici e pleuropneumonici, che provocano un prolungamento dei tempi di recupero, lesioni polmonari permanenti ed il ritiro precoce dalle competizioni.

In tabella 4.1 sono riportati i più comuni agenti batterici responsabili di processi patologici a livello delle vie aeree profonde.

Secondo alcuni autori lo *Pseudomonas* spp. raramente è responsabile di patologie e il suo isolamento dall'aspirato tracheobronchiale suggerisce una contaminazione ambientale attraverso gli strumenti impiegati per il prelievo [6]. I batteri anaerobi più comunemente isolati sono *Bacterioides fragilis*, *Peptostreptococcus anaerobius* e *Fusobacterium* spp.

Agenti patogeni	
<i>Streptococcus zooepidemicus</i>	<i>Actinobacillus suis</i>
<i>Streptococcus equi var equuli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Bordetella bronchiseptica</i>
<i>Streptococcus equi var equi</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Pasteurella</i> spp.
<i>Enterobacter</i> spp.	<i>Staphylococcus aureus</i>

Tabella 3.3: Batteri più frequentemente isolati dal polmone di cavalli adulti (Da Hewson e Viel [125]).

### Sintomatologia

Negli stadi iniziali del processo infettivo i segni clinici non sono evidenti e si limitano a suoni di gorgoglio per la presenza di essudato in trachea, febbre e depressione. Con il progredire della patologia, il cavallo può manifestare febbre intermittente, tachipnea, distress respiratorio, scolo nasale, tosse, inappetenza, intolleranza all'esercizio e perdita di peso. Lo scolo nasale spesso è mucopurulento ma in alcuni casi può divenire emorragico. L'auscultazione toracica rivela la presenza di rumori respiratori aspri e crepitii nelle regioni dorsali del polmone, e lievi rumori respiratori in quelle ventrali. La manipolazione del laringe o della trachea stimola il riflesso della tosse. Alitosi e scolo nasale maleodorante suggeriscono un'infezione da parte di batteri anaerobi. La linfadenopatia sottomandibolare è molto evidente in corso di infezioni virali o di polmonite *ab ingestis* associata ad ostruzioni esofagee.

### Elementi diagnostici

I segni clinici e l'anamnesi possono indirizzare il clinico verso una patologia di natura infettiva. Gli esami ematologici mostrano leucocitosi e marcata neutrofilia, con o senza deviazione a sinistra. Iperfibrinogenemia (> 500 mg/dl), iperglobulinemia, ipoalbuminemia e anemia sono compatibili con la diagnosi di polmonite batterica cronica.

L'esame endoscopico delle prime vie aeree può evidenziare eventuali disfunzioni del laringe o del faringe che secondo alcuni Autori sono una delle cause predisponenti alle infezioni batteriche, inoltre con questo esame è possibile rilevare la presenza di essudato mucopurulento, con o senza striature di sangue, nelle basse vie respiratorie [6].

Le radiografie toraciche mostrano radioopacità nelle aree cranioventrali del

torace e una perdita di definizione nei campi polmonari posti caudalmente al cuore. Occasionalmente si riscontrano broncogrammi aerei nei cavalli adulti con polmonite batterica.

L'ecografia svela consolidamento dei lobi polmonari ventrali e l'estensione del processo flogistico anche alle pleure. L'esame citologico dell'aspirato tracheale (Tracheal Wash TW) svela la presenza di neutrofilo degenerati, cellule di sfaldamento epiteliali e microrganismi. La presenza di cellule epiteliali squamose depone a favore di una diagnosi di polmonite *ab ingestis*, o di una contaminazione del catetere per retroversione nel faringe. Il campione deve essere utilizzato per l'allestimento di culture batteriologiche in condizioni di aerobiosi e di anaerobiosi

### **Terapia e profilassi**

Per la terapia devono essere impiegati antibiotici mirati al patogeno responsabile della malattia. In attesa dei risultati dell'esame culturale e dell'antibiogramma è bene utilizzare un antibiotico ad ampio spettro. Gli aminoglicosidi sono efficaci contro la maggior parte dei gram negativi aerobi, ma non hanno effetto contro gli anaerobi inoltre devono essere usati con prudenza in soggetti con compromissione renale o disidratati. Il metronidazolo risulta molto efficace contro i Gram-negativi. La terapia antibiotica deve essere continuata per un periodo di tempo non inferiore ai 15 giorni e comunque fino alla completa negativizzazione dell'esame batteriologico del BAL e/o del TW. A questi farmaci si possono associare analgesici ed antipiretici, quali fenilbutazone o flunixin meglumine, ed altri interventi di supporto variabili a seconda dei casi come per esempio nebulizzazioni con mucolitici, espettoranti e broncodilatatori.

Per ridurre i fattori di rischio nei confronti delle malattie infettive è opportuno assicurare una gestione ottimale dei soggetti da competizione, mediante misure di igiene ambientale, utilizzando lettieri depolverate e alimento di buona qualità, frequenti vaccinazioni contro i virus respiratori ogni 4-6 mesi, mezzi di trasporto confortevoli e con frequenti soste ed assicurando adeguati periodi di convalescenza dopo infezioni virali dell'apparato respiratorio [29].

Patogeni	Farmaco d'elezione	Farmaco di II scelta
<i>Streptococcus</i> spp.	Penicillina G, ampicillina, ceftiofur	trimethoprim-sulfonamide, eritromicina, cloramfenicolo
<i>Staphylococcus aureus</i>	trimethoprim-sulfonamide	enrofloxacin, cloramfenicolo, gentamicina
<i>Escherichia Coli</i>	gentamicina, amikacina	ceftiofur, enrofloxacin, orbifloxacin, trimethoprim-sulfonamide
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	gentamicina, amikacina	ceftiofur, enrofloxacin, orbifloxacin, trimethoprim-sulfonamide
<i>Enterobacter</i> spp.	gentamicina, amikacina	ceftiofur, enrofloxacin, trimethoprim-sulfonamide
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	gentamicina, amikacina, ticarcillina	enrofloxacin, cefepime, ceftazidime
<i>Pasteurella</i> spp	ceftiofur, ampicillina, trimethoprim-sulfonamide	enrofloxacin, orbifloxacin, cloramfenicolo, tetracicline
<i>Actinobacillus</i> spp.	ampicillina, penicillina, trimethoprim-sulfonamide	enrofloxacin, orbifloxacin, cloramfenicolo

Tabella 3.4: Farmaci di elezione per infezioni batteriche (modificato da Papich [126]).

## CAPITOLO 4

# STRUMENTI DIAGNOSTICI

*In questo capitolo sono descritti gli strumenti a disposizione del clinico per formulare una corretta diagnosi. Particolare attenzione viene rivolta alla tecnica del lavaggio broncoalveolare e tracheale.*

### 4.1 Raccolta dell'anamnesi

Un cavallo atleta con *poor performance* rappresenta una sfida per i proprietari, gli allenatori e i veterinari.

Il primo passo da compiere è capire se il soggetto ha sofferto di una riduzione delle sue performance o se, molto più semplicemente, il cavallo è geneticamente e fisicamente scarso.

La storia personale risulta fondamentale per stabilire il decorso e la severità dello scarso rendimento. Si dovrà determinare se il cavallo ha avuto una cronica e progressiva riduzione delle capacità, o se esiste un fatto acuto oppure inaspettato.

Davanti ad un sospetto di Sindrome da Scarso Rendimento atletico (SSR) l'approccio migliore consiste nel raccogliere i dati anamnestici secondo due linee principali: l'anamnesi atletica e quella clinica, entrambe remote e recenti.

#### ANAMNESI ATLETICA

Nell'anamnesi remota si dovranno valutare tutte le informazioni sulla storia atletica del soggetto, cioè:

- sapere se i risultati di gara hanno sempre soddisfatto le aspettative,

- la frequenza delle corse con profilo dei piazzamenti e delle vittorie,
- quali distanze sono di norma coperte in gara,
- le caratteristiche dell'allenamento: intensità, frequenza e durata,
- le eventuali interruzioni nella preparazione e relative motivazioni,
- se viene montato sempre dallo stesso fantino o se è cambiato per quale motivo,
- il temperamento del cavallo prima della corsa ed eventuali cambiamenti nel tempo.

L'anamnesi recente si propone di raccogliere le informazioni relative alle gare o a quelle situazioni in cui si è cominciato a sospettare *poor performance*, cioè:

- se il cavallo ha bruscamente mutato il suo carattere, con conseguente difficoltà di gestione da parte dell'artiere,
- se in gara manifesta strani atteggiamenti, ad esempio non segue le curve o galoppa sempre di destro o di sinistro. Nel caso di trottatore sapere se rompe spesso l'andatura,
- se il fantino riesce ad interpretare bene il cavallo durante la corsa,
- se il cavallo ha avuto un cambio nella categoria di corsa,
- se il cavallo è stato ferrato recentemente prima della corsa,
- se ci sono stati cambi di superficie della gara,
- se esiste rispondenza tra allenamento e reale distanza di corsa in gara.

#### ANAMNESI CLINICA

In quella remota andranno raccolte tutte le notizie riguardo patologie ed eventuali terapie subite, con particolare attenzione a:

- episodi clinici sporadici sottovalutati e non seguiti da una reale indagine clinica (tosse, zoppie lievi o dolore muscolare),
- alimentazione del cavallo, studio della sua razione giornaliera al fine di valutare se è adeguata all'intensità di lavoro,
- cambiamenti nel tipo di ferratura,



- regolarità dei trattamenti antiparassitari.

Nell'anamnesi recente l'attenzione viene focalizzata su tutte quelle situazioni legate ai giorni precedenti alla gara:

- recenti sintomi clinici, come accessi di tosse o apatia,
- eventuale diminuzione dell'appetito, è importante verificare che il cavallo abbia sempre mangiato la sua razione,
- tutti i trattamenti farmacologici eseguiti prima della corsa (sarà molto difficile che l'allenatore dichiari tutte le sostanze utilizzate).

Una scrupolosa analisi aumenta la possibilità di individuare i reali casi di *poor performance* e scongiurare tutte quelle situazioni che possono simulare un calo atletico.

Un cavallo che ha avuto uno o più risultati negativi non necessariamente è un cavallo patologico, essendo molteplici i fattori che contribuiscono alla resa atletica. Infatti le capacità individuali rispondono a caratteristiche dipendenti o meno dal soggetto.

Si dovranno considerare:

- la costituzione genetica del cavallo, che più di ogni altra cosa condiziona i parametri fisiologici e biomeccanici e quindi la sua abilità,
- lo stato di allenamento: ai fini di un corretto *training* tutti i sistemi fisiologici del soggetto andrebbero testati, come la capacità aerobica di lavoro, di termoregolazione e la potenza dell'apparato muscolo-scheletrico,
- lo stato di salute: molte condizioni più o meno patologiche, come uno scarso livello di idratazione, possono influenzare negativamente la resa del soggetto,
- fattori non fisiologici, o comunque esterni all'animale, come il tipo di terreno su cui si allena, le condizioni climatiche, l'abilità del fantino.

## 4.2 Esame Clinico

Raccolti tutti i dati anamnestici, si passa all'esame fisico del soggetto che rappresenta la parte più importante dell'iter diagnostico. Si inizia da un semplice esame obiettivo generale, con il rilievo delle funzioni vitali, del colore delle mucose, del tempo di riempimento capillare (TRC) e della temperatura corporea. Segue un accurato esame del cavo orale per escludere la presenza di



Figura 4.1: Cavallo affetto da RAO con ipertrofia dei muscoli addominali per difficoltà respiratorie. Foto da [16].

ulcere, dolorabilità od anomalie della tavola dentaria.

Tutti gli apparati devono essere valutati al fine di escludere altre cause di scarso rendimento come patologie all'apparato muscolo-scheletrico, gastroenterico o cardiaco.

L'esame dall'apparato respiratorio deve essere eseguito seguendo sempre lo stesso procedimento per evitare possibili omissioni. È consigliato iniziare dall'esame delle vie aeree superiori e procedere in senso rostro-caudale [127]. Lo scopo dell'esame dell'apparato respiratorio è quello di localizzare la sede dell'alterazione e aiutare il clinico nella scelta degli strumenti diagnostici per poter sviluppare una lista di diagnosi differenziali.

Il cavallo viene visitato a riposo e dopo un esercizio fisico, possibilmente ricreando le condizioni di gara.

Le cavità nasali devono essere controllate per valutare la presenza di scoli o di alterazioni delle pieghe alari o delle false narici. Anche il setto internasale deve essere palpato per verificare irregolarità o ispessimenti. Si passa poi alla percussione dei seni mascellari e frontali che può mettere in evidenza aree di sonorità ottusa o dolore che indicano sinusiti.

La palpazione del muscolo cricoaritrnoideo dorsale permette di apprezzare un'eventuale riduzione della massa muscolare e un esame attento può svelare la presenza di cicatrici o di ossificazioni, segni di interventi chirurgici per la risoluzione di patologie delle prime vie aeree come emiplegie laringee.

Successivamente si passa alla palpazione dei linfonodi retrofaringei e intermandibolari e alla stimolazione del riflesso della tosse; se la tosse viene evo-



Figura 4.2: Impiego del *rebreathing bag* durante l'esame clinico.

cata significa che c'è un'irritazione della laringe a causa di un'inflammazione. Anche la trachea viene palpata per mettere in evidenza eventuali deviazioni, restringimenti o asimmetrie.

Dopo aver esaminato le prime vie aeree, il clinico osserva la frequenza e le caratteristiche del respiro, in particolare se la fase inspiratoria o quella espiratoria sono più prolungate del normale. Una fase inspiratoria prolungata può indicare un'ostruzione delle vie aeree superiori, mentre una prolungata fase espiratoria può indicare una patologia cronica a carico delle vie profonde. All'esame fisico è possibile evidenziare un'eventuale ipertrofia dei muscoli addominali appena ventralmente alla giunzione costocondrale, l'ipertrofia è secondaria ad un aumento dello sforzo addominale durante la respirazione come accade nella RAO (vedi fig. 4.1).

Le caratteristiche dei suoni respiratori vengono valutate attraverso un'accurata auscultazione della laringe, della trachea e dei campi polmonari. La frequenza e la profondità del respiro aumentano utilizzando il *rebreathing*

*bag*: il muso dell'animale viene inserito in un sacchetto di plastica o in un guanto da esplorazione in modo da costringerlo ad inspirare l'aria precedentemente espirata che risulterà più ricca di anidride carbonica per 1-2 minuti (vedi foto 4.2).

Il clinico deve auscultare il polmone immediatamente dopo aver tolto il sacchetto per valutare le porzioni più profonde dell'inspirazione e dell'espirazione. Ogni campo polmonare deve essere auscultato per almeno 2 minuti con e senza il *rebreathing bag* per rilevare la presenza di suoni anormali come rantoli umidi, secchi o crepitanti.

La percussione del torace viene utilizzata per determinare la presenza di fluido o ascessi. In questa procedura gli spazi intercostali vengono percossi dall'alto verso il basso. Le aree di sonorità ottusa denotano la presenza di raccolta pleurica, pleuropolmoniti localizzate, aree atelettasiche e ascessi. L'aumento di risonanza e l'aumento dei bordi caudali può indicare RAO e pneumotorace.

Solo dopo che è stato eseguito un esame dettagliato dell'apparato respiratorio è possibile scegliere le tecniche diagnostiche più idonee sulla base delle quali è possibile formulare una diagnosi.

### 4.3 Le tecniche di campionamento

Lo sviluppo delle tecniche diagnostiche in medicina equina ha seguito quello della medicina umana. In passato, nell'uomo la valutazione delle forme infiammatorie dell'apparato respiratorio erano affidate all'analisi di campioni di *sputum*, aspirati tracheali, citologia ad ago fine e biopsie polmonari. Allo stesso modo, la diagnosi delle malattie respiratorie nel cavallo si basava soprattutto sull'analisi di aspirati tracheali e raramente su biopsie polmonari. L'aspirato tracheale è un'indagine collaterale utilizzata soprattutto negli anni '70 e '80 per la raccolta di campioni da utilizzare per l'analisi citologica e batteriologica. In questi anni sono stati pubblicati lavori in cui vengono riportati i valori di riferimento per la citologia sia di soggetti sani che malati [128][129].

Con l'avvento degli endoscopi flessibili, grazie al dott. S. Ikeda nel 1968, si è verificato un cambiamento sostanziale nelle possibilità diagnostiche in campo umano e di conseguenza anche in medicina veterinaria. Sebbene il fibroscopio sia stato inizialmente utilizzato solo a scopi scientifici per lo studio di patologie immunomediate come la sarcoidosi e la fibrosi polmonare idiopatica nell'uomo, ben presto è risultato evidente che questa tecnica min-invasiva potesse essere impiegata anche in campo clinico per la diagnosi di tutte le patologie infiammatorie dell'apparato respiratorio mediante il lavag-

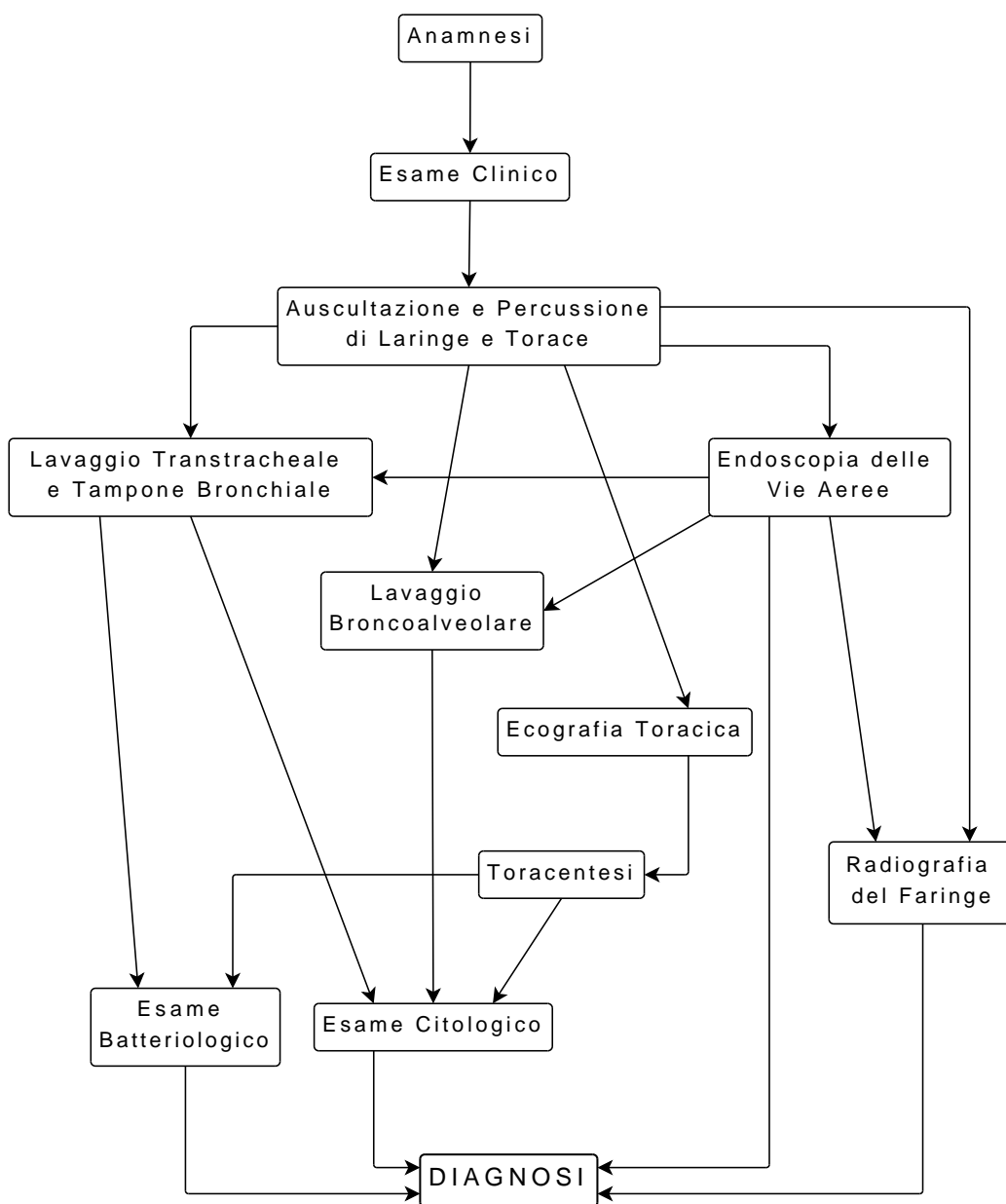


Figura 4.3: Iter diagnostico per la valutazione di cavalli che mostrano scarso rendimento per patologie dell'apparato respiratorio (Da Andrews [127]).

gio broncoalveolare. Quindi attraverso l'uso dell'endoscopio è stato possibile ottenere, con una procedura minimamente invasiva, campioni che rappresentano specificatamente le basse vie respiratorie. Nei primi anni '80 anche in medicina equina si è iniziato ad utilizzare il BAL come indagine collaterale delle vie aeree profonde [130].

La raccolta delle secrezioni tracheali permette di eseguire sul campione ottenuto alcuni esami collaterali come per esempio l'esame citologico o l'esame colturale.

La raccolta può essere eseguita sia per via trans-tracheale che per via endoscopica. Entrambe le modalità possono essere effettuate anche in campo. Con la via trans-tracheale si evita il passaggio dalle prime vie respiratorie e la conseguente contaminazione da parte della flora commensale del nasofaringe; è quindi la procedura più indicata quando si necessita di un campione da sottoporre ad esami batteriologici in soggetti con sospetta polmonite batterica.

Entrambe le metodiche vengono effettuate con il cavallo in stazione quadrupedale, sedato e solitamente contenuto anche mediante un torcinaso.

La sedazione può essere ottenuta mediante somministrazione di  $\alpha_2$ -agonisti come xilazina idrocloridrato (0,3–0,5 mg/kg pc, IV), o detomidina (0,03–0,05 mg/kg pc, IV). Quest'ultima è preferita agli altri sedativi perché provoca una minore pesantezza della testa rendendo il prelievo più agevole.

La concomitante somministrazione di butorfanolo tartrato (0,01–0,03 mg/kg pc, IV) è consigliata in soggetti con iperreattività delle vie aeree perché evita o riduce gli accessi di tosse.

### 4.3.1 Aspirato transtracheale (*Transtracheal Aspiration TTA*)

Per l'esecuzione di questo esame è necessario preparare un campo chirurgico di circa 10×10 cm a livello del terzo medio della trachea. Successivamente si inietta un anestetico locale (ad esempio lidocaina) nel tessuto sottocutaneo, quindi si esegue una incisione di circa 0,5 cm sulla cute per facilitare la penetrazione di un ago o un catetere 12–14 G. L'ago viene fatto passare in direzione ventro-caudale attraverso gli anelli tracheali individuati precedentemente mediante palpazione.

Una volta posizionato l'ago, da questa apertura viene fatto passare un catetere sterile in polietilene di 5–8 French e 50 cm di lunghezza (di solito viene utilizzato un catetere urinario per cane) all'interno della trachea. Quando il catetere raggiunge e tocca la biforcazione tracheale induce dei colpi di tosse che confermano il giusto posizionamento del catetere stesso. Successivamente

si instillano con una siringa 30-60 ml di soluzione fisiologica sterile a 37 °C e subito si aspirano con la stessa siringa con cui la soluzione è stata infusa.

La procedura può essere ripetuta due-tre volte in modo da ottenere una quantità di liquido refluo sufficiente per le indagini di laboratorio [131][132][133][134][16]. Per facilitare il recupero della soluzione fisiologica è possibile far inclinare la testa del cavallo verso basso o estrarre il catetere aspirando.

È necessario rimuovere il catetere e l'ago simultaneamente per evitare che la punta dell'ago stesso tagli il catetere. Infine l'incisione cutanea viene suturata.

È opportuno effettuare una terapia di copertura con antibiotici per prevenire le complicazioni nel sito di passaggio di ago e catetere, particolarmente raccomandata se si aspira materiale maleodorante o purulento. In caso di sospetta polmonite batterica o di ascesso polmonare, le secrezioni possono essere aspirate direttamente senza insufflare la soluzione fisiologica.

Le complicazioni possibili sono rappresentate da lesione degli anelli tracheali con flogosi cronica secondaria, da infezione/cellulite nel sito di penetrazione dell'ago a causa di batteri provenienti dalle basse vie, da rottura del catetere nel sottocute che necessita di una rimozione chirurgica, e da enfisema sottocutaneo [128][135][131].

È possibile anche che si verifichi la rottura del catetere all'interno della trachea, fortunatamente la tosse in pochi minuti permette l'espulsione della porzione persa o una retroversione del catetere stesso verso l'oro-faringe con una conseguente contaminazione del campione tracheale raccolto o addirittura un campionamento errato dell'oro-faringe [125].

### 4.3.2 Lavaggio tracheale (*Tracheal Wash TW*)

Attraverso l'utilizzo dell'endoscopio si ha il vantaggio di poter esaminare lo stato delle strutture anatomiche, il grado di infiammazione della mucosa, il tipo di secrezioni e quantificarne l'entità. Inoltre questa procedura è meno invasiva rispetto all'aspirato tracheale [136][27]. Dopo il posizionamento dell'endoscopio (vedi § 4.3.3), la metodica prevede l'insufflazione di 30–60 ml di soluzione fisiologica sterile a 37 °C attraverso un catetere fatto passare nel canale di servizio dell'endoscopio stesso. Una volta insufflato, il liquido viene immediatamente aspirato [131][132][133][134][16].

Il materiale prelevato potrebbe essere contaminato da batteri provenienti dall'oro-faringe e dalle prime vie aeree perché trasportati verso la trachea durante il passaggio dell'endoscopio [137]. Per minimizzare questa possibilità si potrebbe utilizzare un catetere a doppia protezione. Alcuni Autori [138][139] affermano che l'utilizzo di questo tipo di catetere fornisce risultati comparabili all'aspirato tracheale ed ha il vantaggio della non invasività. Altri Autori



[138][139][137][140] affermano che, anche per i campioni ottenuti con aspirato tracheale o con endoscopio e catetere a doppia protezione, è comunque necessario interpretare con cautela la presenza di batteri nel citologico in quanto una flora batterica fisiologica è sempre presente nella parte più rostrale della trachea.

### 4.3.3 Lavaggio broncoalveolare (*Bronchoalveolar Lavage* BAL)

Il BAL è un esame collaterale dell'apparato respiratorio che può essere effettuato sia con tecnica endoscopica che alla cieca. La tecnica alla cieca è una valida alternativa all'utilizzo dell'endoscopio se non si ritiene necessaria una attenta visualizzazione delle vie aeree, ad esempio se queste sono già state visionate con un endoscopio troppo corto per il BAL, richiede un supporto tecnico minimo, è a basso costo e facile da effettuare. L'utilizzo dell'endoscopio ha il vantaggio di poter visualizzare le strutture aeree fino alle basse vie e segnalare eventuali alterazioni patologiche correlabili con la patologia respiratoria sospettata (edema, broncospasmo) e la presenza di secrezioni e/o sangue [125]. Per effettuare un BAL nella maggior parte dei soggetti adulti, è necessario che l'endoscopio sia lungo almeno 160–180 cm. La profondità del polmone lavato dipenderà dal diametro esterno dello strumento. In quasi tutti i soggetti adulti un diametro esterno di 10–13 mm garantirà il lavaggio dei bronchi di V-VI generazione. Rispetto alla metodica alla cieca, l'endoscopio permette anche la visualizzazione delle vie aeree prima che si effettui il BAL. Il naso-faringe può essere esaminato attentamente per evidenziare anomalie anatomiche o scoli. Se si sospetta una rumore delle vie alte, è importante visualizzare il naso-faringe prima di sedare il cavallo e senza l'utilizzo del torcinaso in modo da avere una giusta valutazione delle eventuali irregolarità. La trachea dovrebbe essere ispezionata per iperemia e per la qualità delle secrezioni [125]. In un recente lavoro è stato proposto un punteggio per valutare quantitativamente il muco presente in trachea [76].

Dovrebbero essere segnalate le raccolte di secrezioni diverse dal muco, registrata la loro localizzazione (terzo superiore, medio o inferiore della trachea), la quantità, il colore e le caratteristiche. A causa della depressione della trachea a livello del suo ingresso in torace, spesso le secrezioni possono essere visualizzate soltanto in quel punto, ma nei casi gravi possono essere evidenziate in tutta la trachea. Anche la presenza di sangue dovrebbe essere registrata e quantificata mediante un punteggio (per questo aspetto si rimanda a paragrafo su emorragia indotta da sforzo, (vedi § 3.3) [106]. Inoltre la presenza di edema dovrebbe essere quantificata valutando lo spes-



---

Punteggio	
0	non è presente muco
1	sono presenti singole gocce di muco
2	sono presenti molte bolle, a volte confluenti
3	il muco è confluyente ventralmente
4	è presente molto muco nella porzione ventrale della trachea
5	il muco occupa il 25% e oltre della trachea

---

Tabella 4.1: Punteggio per la valutazione quantitativa del muco presente in trachea secondo Holcome et alii, 2001.

sore della biforcazione tracheale e delle divisione dei grossi bronchi che appariranno ispessiti e stoncati. Anche il broncospasmo può essere valutato durante l'esame endoscopico ed è caratterizzato dalla protrusione degli anelli tracheali nel lume delle vie aeree con conseguente riduzione del diametro delle vie aeree.

Naturalmente, poiché la valutazione endoscopica delle vie aeree è un esame soggettivo, dovrebbe essere effettuato da un operatore esperto. Per questo motivo sono stati sviluppati dei sistemi semi-quantitativi a punteggio per standardizzare i rilievi ottenuti [141][142].

È importante ricordare che l'utilità del BAL è in relazione al fatto che con esso si indagano patologie diffuse a tutto il polmone e non localizzate come, ad esempio, un ascesso. Inoltre in presenza di una patologia generalizzata la comparazione tra l'esame citologico del polmone sinistro e di quello destro ha evidenziato che non viene rilevata differenza tra l'uno e l'altro [143]. In alcuni casi è comunque necessario lavare particolari siti polmonari, come ad esempio i settori cranio-ventrali, se sospettiamo una polmonite *ab ingestis* o i settori caudo-dorsali, se si sospetta una EIPH.

Il BAL viene effettuato in stazione quadrupedale su un animale sedato. Come per l'aspirato ed il lavaggio tracheale, anche per il BAL la sedazione viene ottenuta mediante somministrazione di  $\alpha_2$ -agonisti come xilazina idrocloridrato (0,3–0,5 mg/kg pc, IV) o detomidina (0,03–0,05 mg/kg pc, IV). La concomitante somministrazione di butorfanolo tartrato (0,01–0,03 mg/kg pc, IV) è spesso utile in soggetti con COPD grave ed ipersensibilità marcata al fine di ridurre gli accessi di tosse secondari al passaggio dell'endoscopio. Inoltre viene raccomandato anche l'utilizzo di un torcinaso, particolarmente durante il passaggio dell'endoscopio nel naso-faringe.

### Tecnica alla cieca

Per questa metodica viene utilizzato un tubo naso-tracheale flessibile e cuffiato, di 8 mm di diametro esterno. Mentre un tubo naso-tracheale cuffiato con diametro esterno di 9 mm fornisce risultati simili a quelli ottenuti con l'endoscopio [144][145][131][16].

Il tubo viene fatto passare attraverso il naso-faringe estendendo la testa del cavallo, in modo da far passare facilmente il tubo attraverso la laringe in trachea. Un colpo di tosse indica che il tubo è arrivato alla biforcazione tracheale e quindi ha stimolato i recettori della tosse; anche in questo caso viene instillata lidocaina allo 0,4% (60–120 ml). Successivamente il tubo viene fatto avanzare finché non si avverte una resistenza che indica che il diametro esterno del tubo è equivalente al diametro del bronco. Nella maggior parte dei casi, il tubo procede naturalmente nelle zone caudo-dorsali. La cuffia viene insufflata con 5–10 ml di aria in modo da prevenire la fuoriuscita del liquido instillato. Come per la tecnica endoscopica vengono infusi 200–300 ml di soluzione salina sterile riscaldata utilizzando 5 siringhe da 60 ml. Si dovrebbero instillare 120 ml di soluzione fisiologica, quindi aspirare, instillare la seconda aliquota di 120 ml ed infine aspirare [132][133][134].

### Tecnica endoscopica

La tecnica endoscopica comporta il passaggio dell'endoscopio attraverso il meato ventrale della narice destra o sinistra, oltrepassare la laringe ed entrare in trachea. Quindi far passare un catetere (7–8 F per colonscopio) nel canale di servizio dell'endoscopio. Il catetere viene inserito in questo istante perché quando si raggiunge la laringe e si entra in trachea, è possibile provocare qualche colpo di tosse; di solito un soggetto sano tossisce 2–3 volte durante il passaggio dell'endoscopio in laringe, a differenza di soggetti con ipersensibilità che possono presentare anche degli accessi di tosse. In questo caso, attraverso il catetere precedentemente posizionato, è possibile infondere lidocaina per uso locale (lidocaina senza adrenalina diluita allo 0,4% in soluzione fisiologica sterile) [131][132][47]. Alcuni Autori [125] sconsigliano l'utilizzo di anestetico locale a livello di giunzione laringo-tracheale perché il liquido instillato potrebbe fluire attraverso la trachea e lavare le basse vie prima che si sia raccolto il campione per l'esame batteriologico o citologico.

Quindi si percorre la trachea sino alla biforcazione, si entra nel bronco principale di destra o di sinistra e si segue l'albero bronchiale finché il diametro dell'endoscopio lo permette. Anche a questo livello, poiché l'attraversamento della biforcazione tracheale può provocare tosse, è opportuno infondere anestetico topico (lidocaina senza adrenalina diluita allo 0,4% in soluzione

fisiologica sterile). L'endoscopio viene fatto procedere fino ad un bronco segmentale: lo strumento deve essere inserito finché non si avverte una resistenza che indica che il diametro esterno dell'endoscopio è uguale al diametro interno del bronco. Questo è molto importante perché è necessario che l'endoscopio stesso occluda il bronco per evitare che il fluido instillato venga disperso. Bisogna ricordare che l'area di polmone che viene lavata e quindi indagata è in relazione al diametro esterno dell'endoscopio. Strumenti con diametro di 10–13 mm generalmente riescono ad occludere bronchi di IV o V generazione, e in questo caso, riusciremo a lavare un numero significativo di bronchi ed alveoli [125].

Una volta che l'endoscopio o il tubo sono posizionati, si può procedere al BAL. Questo viene effettuato con soluzione fisiologica 0,9%. È utile scaldare a 37 °C la soluzione per evitare il broncospasmo indotto dal freddo che ridurrebbe la quantità di liquido recuperato. Si infondono 300 ml di soluzione salina sterile a 37 °C e, una volta che tutta la soluzione fisiologica è infusa, si aspira immediatamente per evitare l'assorbimento della soluzione da parte dell'albero bronchiale. Si riesce a raccogliere fino al 75% della soluzione infusa [134][16].

Il fluido può essere instillato direttamente attraverso il canale di servizio dell'endoscopio oppure è possibile utilizzare un catetere che viene fatto passare nel canale di servizio dello strumento attraverso il quale passa il liquido.

Il liquido viene raccolto con siringhe da 60 ml, cercando di non applicare un'eccessiva pressione negativa; questo è necessario per evitare il collasso delle vie aeree molto infiammate che rallenterebbe la raccolta del liquido refluo dagli alveoli ed un trauma sull'epitelio che provocherebbe un rilascio di globuli rossi. Il volume di liquido infuso influenza la conta cellulare totale e differenziale. Un volume ridotto di liquido di solito porta alla raccolta di cellule dai bronchi ma non dagli alveoli con un aumento della percentuale dei neutrofili. Volumi maggiori di liquido permettono di raccogliere campioni più rappresentativi delle cellule alveolari [146]. Sebbene il volume di liquido infuso sia stato modificato più volte negli ultimi venti anni oggi si raccomanda di instillare 250–500 ml in modo da poter effettuare comparazioni tra gli studi scientifici di settore [147].

Il liquido viene infuso in 2–3 aliquote, applicando una suzione negli intervalli. Di solito si raccoglie il 40–60% del liquido infuso, anche se in alcuni casi, in soggetti affetti da COPD/RAO, è possibile raccogliere soltanto una quantità minima di liquido a causa dal collasso delle vie aeree secondario all'edema e al broncospasmo [125].

Le complicazioni del BAL sono minime. Una risposta infiammatoria di tipo neutrofilico si instaura a livello del polmone lavato e può essere rilevato nei lavaggi successivi entro 48 ore dalla procedura iniziale. Questa risposta è però

limitata al bronco e segmento di polmone lavato e non coinvolge i bronchi adiacenti ed il polmone controlaterale [148].

Rialzi modesti della temperatura rettale sono stati osservati entro 24 ore dalla procedura, senza effetti clinici. Comunque, i casi di piressia elevata o persistente associati a depressione del sensorio dovrebbero essere valutati attentamente, poiché questi sintomi possono indicare una disseminazione di una preesistente infezione secondaria alla procedura. Quindi è necessario avvisare i proprietari di monitorare l'appetito, la temperatura rettale e un eventuale deterioramento della funzionalità respiratoria nelle 24 ore post-lavaggio [125].

La scelta delle tecniche diagnostiche da impiegare dipende da molti fattori tra cui l'anamnesi del soggetto, la sintomatologia clinica, la facilità di esecuzione dell'esame [133].

Le due tecniche non sono sovrapponibili in quanto indagano porzioni diverse dell'albero bronchiale. L'aspirato tracheale (TW), infatti, permette la raccolta di un campione di materiale presente in trachea e proveniente da zone non definite del polmone, mentre il lavaggio broncoalveolare (BAL), saggia una regione periferica del polmone. Quindi l'utilizzo del BAL è indicato se si sospetta una patologia diffusa a tutto il polmone. Inoltre non esiste una correlazione tra la citologia del TW e del BAL [71][133][149].

In alcuni casi, quando si sospetta una specifica patologia in base alla storia clinica e ai sintomi, è possibile optare per una delle due indagini. Ad esempio, in caso di sospetta COPD o EIPH, è più utile effettuare il BAL, mentre in caso di un a sospetta polmonite batterica è meglio eseguire il TW.

In uno studio eseguito su 48 soggetti (PSI e trottatori) con storia di scarso rendimento atletico, sono stati eseguiti entrambi gli esami 1–2 ore dopo esercizio su treadmill, e sono stati allestiti i citologici che sono stati colorati con Diff-Quick®. Gli Autori hanno voluto valutare quale significato diagnostico potesse avere la percentuale di neutrofilari ritrovati e comparare il valore ottenuto con il TW e con il BAL. Gli Autori hanno stabilito un cut-off diagnostico di IAD di 20% per l'AT e 5% per il BAL. Il 37% dei soggetti hanno mostrato differenze tra i due prelievi, ed in particolare è stata diagnosticata la IAD in 13 soggetti solo con il TW ed in 6 solo con il BAL. Per questo motivo viene consigliato di verificare sempre in doppio i citologici. Inoltre nel TW è stata identificata una percentuale maggiore di eosinofili, mentre nel BAL una percentuale più elevata di mastociti [150][151].

Per questo motivo si consiglia di valutare entrambi gli aspirati e usare più coloranti per rilevare la presenza di mastociti.

## 4.4 Esame del campione raccolto

Il materiale prelevato deve essere ispezionato per colore, trasparenza e presenza di muco. Nei soggetti normali il liquido del BAL è chiaro o lievemente torbido e sulla superficie è possibile osservare della schiuma bianca, costituita dal surfactante prelevato.

I campioni ottenuti da soggetti con EIPH possono presentare una colorazione da rosata a rossa, in base al numero di globuli rossi presenti nel BALF (Bronchoalveolar Lavage Fluid); uno studio ha evidenziato che il campione è francamente rosso quanto il numero di emazie risulta superiore a 13.000 per microlitro. Il materiale flocculento in sospensione è costituito da muco e da detriti cellulari.

Il liquido del BAL deve essere posto in provette per ematologia contenenti EDTA sodico e sul campione viene eseguita la conta delle cellule totali con un contaglobuli automatico. I risultati ottenuti devono essere interpretati criticamente perché lo strumento non riesce contare tutti gli elementi cellulari; infatti vengono esclusi quelli di maggiori dimensioni e trascurati tutti quelli intrappolati dal muco [152]. Purtroppo filtrare il campione non migliora l'accuratezza della conta sottostimando la reale entità delle cellule presenti [153][154][155][156].

La diluizione delle cellule nella soluzione fisiologica è un altro fattore di errore nella stima quantitativa delle cellule. Sono state sperimentate altre procedure nel tentativo di oggettivare il numero di cellule nel BALF, come il dosaggio della concentrazione di urea, albumina,  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$ , al fine di ottenere un fattore di correzione, ma i risultati ottenuti fino adesso non risultano incoraggianti per l'alta variabilità delle concentrazioni rilevate [157]. Allo stato attuale si considera un lavaggio ottimale quando viene recuperato circa il 40–60% della soluzione fisiologica instillata e il limite di riferimento superiore del numero di cellule per microlitro è di 400 elementi [125].

### 4.4.1 Esame citologico

Uno studio del 2001 [158] ha evidenziato un deterioramento significativo delle cellule nel BAL in relazione alla temperatura utilizzata per la conservazione del campione. Secondo gli Autori i campioni destinati all'esame citologico devono essere processati entro 8 ore se mantenuti a temperatura ambiente oppure entro 24 ore se refrigerati a 4 °C allo scopo di evitare il deterioramento delle cellule e la sovracrescita batterica.

Nel caso in cui il materiale non possa essere conservato in maniera idonea è conveniente allestire quanto prima il preparato facendo poi seccare all'aria i vetrini. L'utilizzo dell'etanolo al 40% da aggiungere in rapporto 1:1 al campio-

ne subito dopo il prelievo blocca la sovracrescita batterica, ma è sconsigliato per le alterazioni morfologiche cellulari che questo tipo di fissazione comporta [159][158].

Il preparato dovrebbe essere allestito direttamente o tramite centrifugazione a bassi giri (600-800 rpm). In quest'ultimo caso il surnatante deve essere delicatamente rovesciato e successivamente prelevato il deposito che verrà strisciato su un vetrino portaoggetto. Il metodo che allo stato attuale, ha miglior rapporto praticità/qualità del preparato è la centrifugazione su vetrino portaoggetto tramite Cytospin®. Lo svantaggio di questa metodica è dovuto all'accumulo in un'area limitata di una grande quantità di muco e di detriti cellulari che possono mascherare e alterare i linfociti; la citocentrifugazione, infatti, causa una riduzione della percentuale di linfociti [160].

Esistono diverse metodiche di preparazione di un citologico per ottenere una stima accurata dei linfociti [161][162][156][163], queste risultano valide, ma non tutte utilizzabili in campo a causa della loro complessità e tempistica di esecuzione. Si consiglia comunque di preparare vetrini sia con Cytospin® che con centrifugazione normale al fine di eseguire una conta cellulare differenziale corretta [125].

I vetrini ottenuti possono essere sottoposti alla colorazione di Romanowsky, Wright-Giemsa o May-Grunwald-Giemsa. Vengono impiegate anche delle colorazioni particolari come il Blu di Prussia, per l'identificazione degli emofagi ed il Blu di Toluidina per i mastociti [125][164][165].

Uno studio del 2006 mette a confronto quattro differenti tipi di colorazione (un metodo di Romanowsky rapido (Fast-R), un metodo automatico Romanosky, il May-Grunwal Giemnsa e il Blu di Toluidina) per preparati citologici di BAL effettuato su 24 cavalli. Il Blu di Toluidina è risultato il metodo migliore per il rilievo dei mastociti, con l'inconveniente di non riuscire a contare le altre cellule che con questa colorazione non vengono differenziate tra loro. Il metodo di Romanowsky rapido è risultato inadeguato allo scopo, mentre sia il metodo di Romanowsky in automatico che quello di May-Grunwal-Giemsa hanno pari capacità di evidenziare i granuli metacromatici dei mastociti [165]. L'accuratezza dell'interpretazione del preparato citologico varia in base al metodo di raccolta del campione e alla tecnica utilizzata per la preparazione del vetrino.

Molti studi hanno evidenziato che esistono differenze tra le popolazioni cellulari presenti nel TW e nel BAL [71][133][149]. Nel prelievo tracheale le cellule epiteliali ed i neutrofili sono più rappresentate rispetto al BAL. Le cellule epiteliali respiratorie sono presenti nel TW in misura diversa in relazione al grado di trauma subito dall'epitelio stesso durante la procedura di raccolta. Allo stesso modo, i neutrofili sono presenti sempre in percentuale maggiore nel TW rispetto al BAL nei soggetti sani [125].

n	Razza	Età	Mac(%)	Limf(%)	PMN (%)	EO (%)	MC (%)	Autori
6	Stb	2.7 ± 1.1	64 ± 5	28 ± 3	4 ± 0.3	1 ± 1	0.3 ± 0.3	Moore,1995 [29]
12	Stb	3.1 ± 0.9	60 ± 5	37 ± 5	2 ± 1	0.03 ± 0.1	0.4 ± 0.4	Hare, 1994 [141]
6	Stb	3.5 ± 1	68*	32*	0.4*	0.3*	1*	Hare, 1998 [142]
11	Tb	3.2 ± 1.2	65 ± 6	28 ± 6	7 ± 3	0	0.2 ± 0.7	Fogarty, 1991 [110]
7	Stb/Tb	4.3	40-70	30-60	< 5	< 0.5	< 2	Ferrucci, 2000 [46]
11	-	-	60.1 ± 1.4	36.7 ± 1.6	2.2 ± 0.4	0.03 ± 0.03	0.4 ± 0.1	Viel,1997 [30][36]
-	-	-	30-60	30-70	< 5	-	-	Moore,1996 [29]
-	-	-	30-60	30-70	< 5	occasionali	rari	Rush Mair, 2004 [16]

Tabella 4.2: Valori ottenuti in soggetti sani. Mac: Macrofagi; Linf: Linfociti; PMN: Neutrofil; EO: Eosinofili; MC: Mast-cell; Stb: Standardbred; Tb: Thorouhbred; \*: dati espressi come valore medio.

Non esiste correlazione tra la popolazione cellulare del TW, quella del BAL e quella ottenuta con i rilievi istopatologici post-mortem [68][133][149]; esiste invece una correlazione tra la popolazione cellulare del BAL e i rilievi isto-patologici [137][144]. Per questo motivo il BAL risulta il metodo più sensibile per la valutazione dello stato infiammatorio delle vie respiratorie profonde. L'unica eccezione riguarda le broncopolmoniti batteriche, per le quali si preferisce il TW in quanto le cellule raccolte rappresentano più fedelmente il quadro patologico. Alcuni Autori hanno evidenziato che paradossalmente soggetti con pleuropolmonite possono avere una citologia negativa del BAL [166].

L'interpretazione dell'esame citologico consiste non solo nel riconoscimento degli elementi cellulari, ma anche nel loro conteggio percentuale. Per questo scopo devono essere contate almeno 200-300 cellule osservando il preparato in tutti i campi visto che la distribuzione cellulare potrebbe non essere omogenea in particolare se presente molto muco con cellule intrappolate. L'esame microscopico deve essere eseguito inizialmente a basso ingrandimento ( $20\times$ ) e successivamente a immersione ( $1000\times$ ) [125].

Le cellule rappresentate normalmente sono macrofagi, linfociti ed in minor misura neutrofili, eosinofili e mastociti. I limiti di riferimento approssimativi sono stati identificati da vari Autori (vedi tabella 4.2). Gli altri elementi cellulari sono le cellule epiteliali ciliate e non, le cellule globose, i batteri in posizione intracellulare o liberi e le spore fungine inalate. L'elemento non cellulare di maggiore è il muco del quale si valuta la qualità e la quantità.

#### 4.4.2 Esame colturale

Tutti i metodi per il prelievo precedentemente descritti offrono vantaggi e svantaggi in quanto dalle secrezioni ottenute da cavalli sani è possibile isolare batteri patogeni, transitori e commensali [125]. Quindi anche dal BAL di cavalli sani possono essere ottenute colonie batteriche con numero limitato di unità formanti colonie (CFU) [110]. Inoltre Whitwell verificò che solo il 50% dei soggetti con esame colturale positivo presentava un quadro citologico indicante un processo infiammatorio profondo [167].

L'aspirato trans-tracheale, anche se ritenuta la metodica più adatta per ottenere un campione da sottoporre all'esame batteriologico, può essere contaminato da batteri commensali della pelle come *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus* sp., o *Enterobacter* sp. [28]. All'esame microscopico la presenza di squame e batteri adesi indica contaminazione pertanto, in tal caso, il risultato dell'esame batteriologico dovrebbe venir ignorato [137].

Un altro metodo di prelievo è quello tramite *brush* protetto, il campione ottenuto può fornire risultati specifici, ma è meno sensibile rispetto altri metodi



di prelievo [168][169].

In ogni caso il risultato positivo deve essere interpretato alla luce dell'esame clinico, radiologico, ecografico e dell'esame citologico. In particolare l'esame batteriologico dovrebbe essere eseguito soltanto nei soggetti clinicamente malati con sintomi quali febbre, abbattimento, tachipnea, rumori respiratori alterati all'auscultazione, presenza di scolo nasale, esame radiografico e/o ecografico anormali. Inoltre la positività della coltura batterica dovrebbe essere ritenuta significativa se il batterio isolato risulti un patogeno dell'apparato respiratorio e nel caso si verifichi una crescita batterica consistente e l'esame citologico riveli un quadro di un'infezione suppurativa. La quantificazione batterica ha senso solo nei prelievi eseguiti senza infusione di soluzione fisiologica. Nel caso di veri patogeni il batterio normalmente cresce in coltura pura con oltre  $10^6$  CFU/ml, mentre le colture miste con meno di  $10^4$  CFU/ml non sono considerate rappresentative [170].

Una volta ottenuto il campione da sottoporre all'esame batteriologico viene seminato su piastre e incubato in condizione sia di aerobiosi che di anaerobiosi a 37 °C per 48 ore. Per l'identificazione si possono usare i kit commerciali Api® che consentono la tipizzazione basandosi sul risultato ottenuto da numerose reazioni biochimiche.

Una volta identificato il patogeno responsabile è possibile ricorrere all'antibiogramma per stabilire la terapia più idonea.

## 4.5 Esame ecografico

L'ecografia si è dimostrata uno strumento adatto per la caratterizzazione e la localizzazione di anomalie del cavo pleurico e delle parti periferiche del polmone. Questo tipo di esame infatti, è più idoneo del controllo radiologico per localizzare e riconoscere un versamento pleurico, per evidenziare la presenza di fibrina e concamerazioni della pleura e per distinguere tra atelettasia polmonare, epatizzazione, formazione di un ascesso e focolai di necrosi [171]. Le possibilità diagnostiche offerte dall'ecografia sono limitate agli strati più esterni di parenchima polmonare. Gli ultrasuoni emessi dall'apparecchio ecografico non sono in grado di penetrare attraverso l'aria, per cui lesioni polmonari dislocate nelle porzioni più profonde del polmone o nel mediastino non possono essere rilevate dal *transducer* in quanto vengono schermate da uno spesso strato di parenchima ventilato.

Per l'esame del torace del cavallo vengono usate sonde settoriali di piccole dimensioni che risultano più idonee, rispetto alle sonde lineari, a causa della ristrettezza e curvatura degli spazi intercostali. Per ottenere una penetrazione sufficiente nel cavo pleurico e nelle porzioni più esterne di parenchima pol-



Figura 4.4: Ecografie alle pleure di un soggetto sano

monare è opportuno usare un trasduttore di frequenza compresa tra 3,5 e 5,0 MHz [134][172].

La preparazione del paziente per l'ecografia prevede la rasatura del pelo, la pulizia della cute per asportare sudiciume e detriti epidermici e l'applicazione sulla parete dell'apposito gel di risonanza acustica. Se la rasatura del pelo non è desiderata, un primo controllo ecografico può essere condotto ugualmente detergendo accuratamente la parte e facendo in modo che il gel di risonanza acustica umidifichi a fondo la cute (in alternativa è possibile utilizzare abbondante alcool).

La sonda viene fatta scorrere su ciascun spazio intercostale a partire dal margine dorsale del polmone verso quello ventrale in modo da ottenere un'immagine dell'intero campo polmonare di ciascun emitorace. È necessario esaminare entrambi gli emitoraci perché la malattia può essere mono o bilaterale.

Un versamento pleurico è facilmente apprezzabile sotto forma di uno strato di liquido ipocogeno o anecogeno compreso tra pleura parietale, diaframma e polmone. Se il liquido raccolto nello spazio pleurico è un trasudato, esso apparirà all'ecografia come un fluido omogeneamente anecogeno o ipoecogeno, mentre se il versamento pleurico è formato da un essudato, il fluido mostrerà materiali ecogeni (cellule, sangue, fibrina). La fibrina si presenta come un insieme di sottili brandelli filamentosi che fluttuano nel liquido pleurico con delle deboli aderenze alle superfici delle pleure. Le lesioni necrotiche sono di aspetto gelatinoso e spesso vanno incontro a cavitazione formando una fistola broncopleurica. Gli ascessi localizzati nelle porzioni più periferiche del polmone appaiono all'esame ecografico come delle aree sonotrasparenti incapsulate da uno strato di tessuto fibroso ancora più ecogeno [134].

## 4.6 Esame radiografico

L'esame radiografico del torace è un esame non invasivo che permette la valutazione del parenchima polmonare e delle strutture intratoraciche. L'impiego di tale tecnica è piuttosto limitato in quanto non sempre si dispone di apparecchiature idonee.

Per valutare le strutture toraciche nel cavallo adulto sono necessarie quattro proiezioni laterali, che dividono il torace in quadranti: craniodorsale, cranioventrale, caudodorsale e caudoventrale [118]. Le proiezioni ventrodorsali vengono impiegate solo per la valutazione dei polmoni nel puledro.

L'interpretazione dei radiogrammi deve essere fatta da personale esperto in quanto l'alta densità dell'interstizio polmonare rispetto a quello dei piccoli animali può condurre ad una diagnosi errata. Tutte le strutture presenti devono essere attentamente osservate a partire dalla base scheletrica. In condizioni fisiologiche le strutture mediastiniche, a causa dell'opacità dei tessuti molli, non sono visibili con l'eccezione di trachea, aorta e vena cava caudale. Una volta valutate forma, dimensioni e direzione di queste strutture, si osservano i campi polmonari che sono costituiti dagli alveoli, dalle vie aeree profonde e dal tessuto interstiziale. Radiograficamente le anomalie sono evidenziate da un cambiamento della radiopacità, originando dei particolari disegni (*pattern*). Esistono tre diversi tipi di *pattern*: l'interstiziale, il bronchiale e l'alveolare.

L'opacizzazione dell'interstizio è il risultato di cambiamenti nel tessuto che circonda alveoli e vasi polmonari. Esistono tre sottotipi diversi di questo *pattern*: il non strutturato, l'infiltrato interstiziale lineare e l'infiltrato interstiziale nodulare.

Il *pattern* bronchiale spesso si ritrova insieme a pattern interstiziali e si riscontra nella broncopneumopatia cronica ostruttiva e in patologie cronico reattive.

Il *pattern* alveolare è più comune nei puledri rispetto agli adulti. Si riscontra un'opacità simile a quella dei fluidi all'interno degli alveoli e il disegno dei bronchi e dei vasi viene oscurato e spesso si ritrovano i broncogrammi aerei. Sfortunatamente, il solo *pattern* non è patognomonico della patologia.

Le radiografie effettuate su cavalli con versamento pleurico sono caratterizzate da un'opacizzazione pari a quella dei tessuti molli in posizione ventrale che nasconde l'ombra diaframmatica e quella cardiaca [118]. In questi casi occorre ricorrere al drenaggio del materiale liquido (vedi § 4.7) e ripetere le radiografie per valutare le strutture polmonari [172].

L'esame radiografico si dimostra più efficiente di quello ecografico quando devono essere valutate le porzioni profonde dei polmoni e gli organi mediastinici e in particolare quando dobbiamo verificare la presenza di linfadenopatie,

ascessi e corpi estranei.

## 4.7 Toracentesi

La toracentesi è un ausilio medico impiegato sia fini diagnostici nei casi in cui è sospettato un versamento pleurico, che a fini terapeutici quando è presente una voluminosa raccolta di liquido nel cavo pleurico.

Il controllo ecografico è utile per non danneggiare accidentalmente il cuore durante la manualità e per localizzare esattamente il punto più adatto per effettuare la raccolta del campione. Il sito per la toracentesi è posto immediatamente al di sopra della giunzione costocondrale del settimo o ottavo spazio intercostale a sinistra, e sesto o settimo spazio a destra [132]. molta attenzione deve essere posta al fine di evitare la vena toracica laterale che si trova lungo il margine caudale delle coste. Una volta localizzato il sito di prelievo la cute deve essere pulita, rasata e disinfettata. Tramite l'iniezione di un anestetico locale si procede con la desensibilizzazione della zona fino alla pleura parietale.

Per raccogliere un campione di liquido da analizzare viene impiegato un ago da 20 G lungo 4 cm. Con la punta di un bisturi viene praticata un'incisione cutanea verticale attraverso la quale viene fatta passare la sonda che, attraversando cute, muscoli e pleura parietale arriverà in cavità pleurica. L'ingresso nel cavo pleurico è percepibile da un calo della resistenza tissutale alla penetrazione [134].

Le complicanze di una toracentesi sono rare, ma l'esecuzione imperfetta può causare pneumotorace, emotorace, aritmia cardiaca e puntura dell'intestino o del cuore. Sporadicamente si instaura una cellulite localizzata. Lo pneumotorace che deriva dall'aspirazione di un piccolo volume di aria dall'esterno, di solito non comporta problemi perché l'aria viene rapidamente riassorbita [172].

Il campione così raccolto viene sottoposto ad esami al fine di determinare le caratteristiche del liquido prelevato. Il liquido pleurico in cavalli sani è un trasudato di colore chiaro tendente al giallo e privo di odori. La conta totale dei globuli bianchi è di circa 3994 cellule/ $\mu\text{l}$ , con una quantità di proteine di circa 1.8 g/dl e con peso specifico 1.015 [118]. Le cellule che maggiormente si riscontrano all'esame citologico sono i neutrofilii seguiti dalle cellule mononucleate; mentre gli eosinofili sono rari. Risulta utile completare gli esami con una coltura batteriologica.

I risultati ottenuti dalle analisi svolte sul campione raccolto indirizzano il clinico nella scelta della terapia più idonea.

## 4.8 Biopsia polmonare

La biopsia polmonare è una tecnica che consente il prelievo di una porzione di tessuto polmonare. Essendo molto invasiva e consigliata solo nel caso di patologie generalizzate o, se focali, individuate tramite ecografia e facilmente accessibili. In genere si ricorre al suo impiego solo quando altre tecniche meno invasive non hanno dato risultati utili a fini diagnostici.

Il sito prescelto per la biopsia deve essere prima esaminato ecograficamente. Per le biopsie i cavalli vengono sedati con xilazina. L'area prescelta per il prelievo viene rasata e preparata asepticamente. La cute, lo spazio intercostale e la pleura parietale vengono anestetizzati con 10 ml di lidocaina al 2%. Un ago di 15 cm Tru-cut 14 G viene introdotto attraverso lo spazio intercostale e diretto dorsalmente, medialmente e ventralmente per ottenere campioni diversi. Il sito di elezione di tale procedura è rappresentato dal settimo o ottavo spazio intercostale, circa 8 cm al disopra della linea orizzontale che passa a livello della giunzione omero-radiale [125]. L'ago deve essere inserito dal margine caudale della costa craniale al margine craniale della costa caudale dello spazio prescelto per evitare i vasi sanguigni che scorrono lungo il margine caudale di ogni costa [134].

Il campione raccolto viene fissato in formalina al 10%. Successivamente viene preparato un vetrino che verrà colorato con ematossilina-eosina per l'esame istologico.

Proprio per l'invasività di tale tecnica è preferibile non effettuarla in quegli animali che mostrano grave distress respiratorio, lesioni cavitari, ipertensione polmonare o insufficienze cardiorespiratorie.

Potenziati complicazioni sono rappresentate da pneumotorace, emotorace, disseminazione di infezioni focali dopo la biopsia di una lesione in cui era presente un focolaio infetto e epistassi.

## 4.9 Esami ematologici

In corso di disfunzioni respiratorie attraverso semplici esami del sangue è possibile svelare alcune variazioni nei parametri ematologici e biochimici.

In cavalli che hanno una riduzione improvvisa delle performance atletiche secondaria a polmoniti, pleuriti e pleuropolmoniti può essere sufficiente un singolo prelievo di sangue. Invece in quei cavalli con patologie subcliniche e graduale riduzione del rendimento atletico, devono essere prelevati campioni ripetuti, oppure il campione deve essere confrontato con quelli precedenti, per stabilire l'andamento della patologia che può indicare un'infezione batterica, virale o infiammazione oppure moderata alterazione della funzione respira-

toria. La neutrofilia indica un'infezione respiratoria subclinica, mentre una leucopenia e neutropenia può indicare un'infezione virale.

Il fibrinogeno plasmatico è una proteina della fase acuta (400–1000 mg/dL). La concentrazione del fibrinogeno aumentata può indicare un'inflammatione, mentre concentrazioni superiori ai 1000 mg/dL indicano inflammatione grave o presenza di ascessi. I valori biochimici di siero e plasma spesso possono rivelarsi utili nella valutazione della poor performance. Enzimi muscolari, come creatin-chinasi (CK), aspartato aminotransferasi (ASP), e lattato deidrogenasi (LDH) possono aiutare a escludere cause muscolari del calo del rendimento [127].

La concentrazione di elettroliti deve essere valutata con cura, perché i valori di siero e di plasma non riflettono sempre la concentrazione corporea. In cavalli con alcalosi metabolica secondaria ad acidosi respiratoria è stata osservata una moderata ipocloremia.

## 4.10 Emogas analisi

L'emogas analisi su sangue arterioso valuta l'efficienza degli scambi gassosi tra sangue e alveoli. Il prelievo viene effettuato a livello dell'arteria faciale ma è possibile ottenere i campioni anche da altri vasi come l'arteria carotide, la digitale palmare, la metatarsale [118].

Il sangue viene campionato in una siringa con eparina. È importante che la siringa non contenga aria altrimenti l'analisi verrebbe falsata a causa di un incremento artificiale della tensione di ossigeno.

Il campione deve essere conservato al fresco e analizzato entro 3,5 ore per evitare un decremento di pH e della  $PO_2$  e un incremento della  $PCO_2$ .

Al momento del prelievo deve essere registrata la temperatura corporea perché il pH e la tensione dei gas in vivo possono essere diversi dai valori ottenuti dal laboratorio se il campione viene analizzato ad una temperatura diversa da quella corporea.

In genere le analisi vengono eseguite ad una temperatura di 37 °C perciò i valori della  $PO_2$  e della  $PCO_2$  sono sottostimati se la temperatura corporea è più alta di 37 °C, mentre sono sovrastimati se l'animale è ipotermico. Il pH invece è sottostimato se la temperatura corporea è più bassa e sovrastimata se la temperatura dell'animale è più alta rispetto a quella del laboratorio.

## 4.11 Tests di funzionalità polmonare

Per valutare l'effetto funzionale delle diverse affezioni polmonari, nonché a fini prognostici sulla ripresa dell'attività agonistica, risultano estremamente utili i tests di funzionalità polmonare eseguiti inizialmente a riposo e durante iperventilazione ipercapnica, in seguito all'applicazione di uno spazio morto respiratorio. I tests consistono nello studio della meccanica respiratoria attraverso la registrazione simultanea dei flussi respiratori e del volume respiratorio - mediante flussimetri ad ultrasuoni applicati su un'apposita maschera - nonché delle variazioni di pressione intrapleurica, mediante trasduttore di pressione collegato ad un palloncino intraesofageo. Da queste misure si possono derivare alcuni importanti parametri fisiologici che esprimono la funzionalità polmonare, quali la *compliance polmonare* ( $C_{dyn}$ ), le resistenze respiratorie totali ( $R_{tot}$ ) ed il lavoro respiratorio<sup>1</sup> ( $W_{resp}$ ). Le principali alterazioni che si possono registrare in corso di affezioni delle basse vie aeree sono: riduzione della ( $C_{dyn}$ ) (indicativa di ridotta distensibilità del parenchima in seguito a flogosi interstiziale e/o fibrosi, o ad asincronismo ventilatorio risultante da una parziale ostruzione delle basse vie aeree; aumento della  $C_{dyn}$  (indicativo di eccessiva distensione del parenchima polmonare, come ad esempio in caso di enfisema alveolare); aumento delle  $R_{tot}$  (indicativo di fenomeni ostruttivi a vari livelli del tratto respiratorio; ad esempio in caso di presenza di essudato nel lume delle vie aeree, broncocostrizione, flogosi della mucosa respiratoria).

Sia la riduzione della  $C_{dyn}$  sia l'incremento  $R_{tot}$  possono provocare un aumento di  $W_{resp}$ .

I tests di funzionalità polmonare consentono di valutare oggettivamente l'entità delle ripercussioni indotte dalle diverse affezioni delle basse vie aeree sulla funzionalità respiratoria. L'alterazione dei parametri sopracitati, alla base della compromissione atletica del soggetto, non deve essere sempre interpretata come un'evento irreversibile; la rivalutazione del paziente dopo idonea terapia consente di scogliere la prognosi in merito alla ripresa dell'attività agonistica [35].

---

<sup>1</sup>Il lavoro respiratorio è il lavoro compiuto dai muscoli respiratori durante l'inspirazione e l'espiazione. Questo consiste principalmente nel lavoro per vincere la resistenza elastica del polmone e le forze di attrito del flusso delle vie aeree.

**Parte II**  
**Parte sperimentale**



## CAPITOLO 5

### SCOPO DELLA TESI

Il lavoro svolto ha come obiettivo, alla luce delle nuove acquisizioni della letteratura corrente, la riclassificazione delle patologie delle vie aeree profonde responsabili del calo di rendimento atletico di cavalli sportivi.

Per raggiungere tale scopo sono stati riesaminati i casi posti all'attenzione del Dipartimento di Clinica Veterinaria della facoltà di Medicina Veterinaria di Pisa in un periodo che va dal Gennaio 2003 fino all'Ottobre 2007.

Per la valutazione di tutti i soggetti sono stati applicati gli stessi criteri in modo da ottenere un quadro generale dell'incidenza delle diverse patologie.

## CAPITOLO 6

# MATERIALI E METODI

In questo studio retrospettivo sono stati analizzati 48 BAL e TW effettuati su soggetti adulti presentati all'attenzione presso il Dipartimento di Clinica Veterinaria di Pisa per scarso rendimento atletico. In particolare i proprietari/allenatori riportavano una riduzione del rendimento atletico e/o scarse capacità di recupero post-esercizio.

### 6.1 Protocollo sperimentale

Dopo la raccolta dei dati anamnestici i cavalli sono stati sottoposti ad una visita clinica completa volta a valutare le condizioni fisiche del soggetto al fine di escludere i casi di non rendimento dipendenti da patologie non respiratorie. Successivamente i soggetti sono stati sottoposti ad endoscopia dinamica e al BAL e al TW.

#### 6.1.1 Raccolta anamnesi ed esame clinico

Le anamnesi dei soggetti, a causa della difficoltà nell'ottenere informazioni verosimili, non hanno permesso nella maggior parte dei casi di venire a conoscenza dell'eventuale presenza di tosse nel periodo precedente all'esame clinico e stabilire in quali frangenti veniva rilevata. L'anamnesi riportava la regolare esecuzione dei trattamenti per parassitosi gastrointestinali e delle vaccinazioni per influenza, mentre non risultavano regolarmente effettuate le vaccinazioni per rinopolmonite equina.

I cavalli su cui si è basato questo studio sono: 35 trottatori, 6 PSI, 5 PSA, 3

sella. Per quanto riguarda il sesso, 12 erano castroni, 19 maschi e 17 femmine; riguardo alla distribuzione dell'età vedi tabella 6.1.

Età	Numero
2 anni	9
3 anni	14
4 anni	8
5 anni	2
6 anni	3
7 anni	4
8 anni	3
≥9 anni	5

Tabella 6.1: Distribuzione della popolazione secondo l'età.

Tutti i cavalli sono stati sottoposti ad una visita clinica completa e per quanto riguarda l'esame obiettivo particolare dell'apparato respiratorio, l'auscultazione è stata effettuata anche con *rebreathing bag*, per identificare rumori non evidenziabili altrimenti.

I cavalli sono stati sottoposti anche ad un esame ecografico delle pleure (ecografo carrellato Falco, Esaote, Italia, sonda Convex multifrequenza 3–5–6 MHz) per diagnosticare eventuali formazioni ascessuali, alterazioni del foglietto pleurico viscerale e/o raccolte liquide.

Infine tutti i soggetti sono stati sottoposti ad esame endoscopico (colonscopio Olympus CF Type EL, centralina CLE 10, Giappone) dinamico su *treadmill* (Sato I, Svezia) per escludere patologie a carico delle prime vie aeree.

Il BAL ed il TW sono stati effettuati circa un'ora dopo l'esercizio massimale. La presenza di muco visibile è stata annotata, ma non quantificata tramite un punteggio.

### 6.1.2 Tecnica di campionamento

La scelta di effettuare il BAL post-esercizio si basa sul fatto che il campione risulta migliore per l'identificazione di malattie delle basse vie respiratorie e con minore contaminazione di cellule delle prime vie aeree [173].

La tecnica utilizzata è stata quella endoscopica come precedentemente descritta nella parte generale (vedi § 4.3.3). Per ogni soggetto sono stati raccolti

almeno 30–40 ml di liquido refluo dal polmone in una siringa da 60 ml, quindi il campione è stato immediatamente utilizzato per la conta cellulare (media di 5 letture) tramite contaglobuli (HemoVet, Seac, Firenze). Sia dal campione ottenuto dal BAL che da quello proveniente dal TW sono state prelevate 4 aliquote da 400  $\mu\text{l}$ , che sono state citocentrifugate (CYTOFUGE2, USA) per ottenere un totale di 8 vetrini per soggetto. La torbidità del campione causata dalla presenza del muco non è stata quantificata.



(a) Endoscopio e catetere



(b) Citocentrifuga (Cytospin®)

Figura 6.1: Strumenti utilizzati per lo studio

### 6.1.3 Preparazione del campione

I preparati così ottenuti sono stati fissati all'aria. Per ogni campione sono stati colorati: due vetrini con Diff-Quick®, uno con la metodica di Perls e solo in alcuni casi, uno con il Blu di Toluidina; successivamente i vetrini sono stati osservati al microscopio. Per ogni campione sono state contate 400 cellule e ottenute le percentuali di: macrofagi, linfociti, neutrofili, eosinofili e mastociti. La lettura è stata sempre eseguita da tre operatori ed è stata calcolata la media delle percentuali ottenute. Inoltre è anche stata eseguita una valutazione della percentuale di emosiderofagi sul totale della popolazione

macrofagica [164].

### Colorazioni

Di seguito vengono riportate le metodiche utilizzate per la colorazione dei vetrini.

#### DIFF-QUICK®

Diff-Quick® è una colorazione molto rapida che permette una buona differenziazione degli elementi cellulari, colorando il nucleo in blu e il citoplasma in rosa.

Procedimento:

- a. il vetrino viene ripetutamente immerso (5 volte per 1"), o si muove per 5"-6" nelle varie soluzioni in questa sequenza:
  - soluzione fissativa a base di metanolo
  - soluzione acida a base di Eosina
  - soluzione basica a base di Tiazina o Azuri
- b. si procede al sciacquo con acqua tamponata (( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) 4 5.47 g/L + ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) 3.8 g/L),
- c. il vetrino viene lasciato asciugare tenendolo quasi in verticale sul lato corto.

#### METODICA DI PERLS

Con questo tipo di colorazione il ferro ionico non legato all'emoglobina ( $\text{Fe}^{3+}$ ) reagisce con il potassio esacianoferrato in soluzione di acido cloridrico, formando un sale complesso insolubile che precipita nelle cellule localizzando il ferro cellulare libero.

La soluzione rosso neutro viene impiegata per ottenere una migliore differenziazione ottica dell'inclusione del ferro nel citoplasma, inducendo una controcolorazione rosa pallido.

Il ferro libero risulta visibile sotto forma di granuli blu intenso. I nuclei si colorano leggermente in rosso, il citoplasma in rosa pallido.

Procedura:

- a. miscelare in eguali porzioni i reattivi HCl 2% e ferrocianuro di potassio al 2%,
- b. mettere la soluzione sul vetrino e lasciar agire per 45 min,

- c. lavare con H<sub>2</sub>O,
- d. mettere rosso neutro 1% per 3 min,
- e. risciacquare con acqua.

Asciugare all'aria e osservare al microscopio ottico.

#### BLU DI TOLUIDINA

Il Blu di Toluidina permette di differenziare i mastociti grazie alla metacromasia dei granuli. Procedimento:

- a. il vetrino viene fissato con metanolo,
- b. mettere il colorante Blu di Toluidina e far agire per 5 min,
- c. dopo aver tolto il colorante in eccesso, mettere il vetrino nel alcool 95° per 15 sec,
- d. successivamente il vetrino viene lasciato 2 min nel alcool assoluto,
- e. infine il vetrino viene lasciato per 3 min nello xilolo.

Trascorso questo periodo i vetrini vengono montati e osservati al microscopio.

### 6.1.4 Criteri di valutazione

La diagnosi di IAD è stata emessa con conta totale delle cellule nucleate/ $\mu$ l superiore a 300 e considerando nella conta differenziale le indicazioni di Autori riportate in Tabella 4.2 per i valori normali [110][141][142][43][46]. Nella nostra indagine abbiamo arbitrariamente usato valori intermedi a quelli degli Autori sopraccitati considerando normali: macrofagi <65%, linfociti <30%, neutrofilo <5%, eosinofili <1%, mastociti <2%.

I casi di IAD sono stati classificati dal punto di vista citologico in:

- IAD mista con linfocitosi, monocitosi e/o neutrofilia,
- IAD eosinofila per eosinofilia >5%,
- IAD mastocitaria per aumento delle cellule metacromatiche >2% [16].

La diagnosi di COPD/RAO è stata emessa nei soggetti con conta totale delle cellule nucleate/ $\mu$ L inferiore a 300 e con neutrofilia nel BAL superiore al 20% [17][46].

---

La diagnosi di EIPH, nei soggetti che non riportavano nell'anamnesi emorragia manifesta ed in assenza di sangue visibile durante l'esame endoscopico, è stata emessa attraverso il rilievo citologico nel BALF di emosiderofagi in percentuale elevata, contenenti materiale ematinico abbondante e derivanti da più episodi stabiliti in base al colore del materiale fagocitato [174][164].

## CAPITOLO 7

## RISULTATI

Nel nostro studio il 72,92% dei soggetti esaminati erano trottatori, il 12,5% PSI, il 8,33% PSA, l'6,25% sella. Il 25% erano castroni, il 39,58% maschi e il 35,42% femmine.

Per quanto riguarda l'età, il valore della mediana è di 4 anni, il 18,75% (9/48) aveva 2 anni, il 29,17% (14/48) 3 anni, il 16,67% (8/48) 4 anni, il 4,17% (2/48) 5 anni, il 6,25% (3/48) 6 anni, l'8,33% (4/48) 7 anni, il 6,25% (3/48) 8 anni, il 10,41% (5/48) maggiore o uguale a 9 anni.

La IAD è stata diagnosticata in 30/48 (62,5%) di queste 8/48 (16,67% del totale dei soggetti esaminati) erano di tipo eosinofilo e 22/48 (45,83%) di tipo misto; la RAO è stata osservata in 9/48 (18,75%), l'EIPH in 5/48 (10,42%). In 3 (15,79%) soggetti appartenenti al gruppo delle IAD miste e in 1 (12,5%) di quelli appartenenti al gruppo delle IAD eosinofile è stato osservato anche un quadro associato di EIPH.

Considerando il tipo di classificazione proposto da Ferrucci [46] delle 22 IAD che noi abbiamo denominato miste, 17/22 (77,3%) sarebbero state identificate come neutrofiliche e 5/22 (22,7%) miste.

Quattro/48 soggetti (8,33%) sono risultati nella norma tanto nella conta totale che nel quadro citologico.

L'età media dei vari gruppi è risultata la seguente: IAD eosinofila ( $2,71 \pm 0,95$ ), IAD mista ( $3,27 \pm 1,03$ ), EIPH ( $4,00 \pm 1,41$ ) e RAO ( $11,83 \pm 4,66$ ). Nel 50% dei casi di IAD e nel 63% dei casi di RAO è stata annotata la presenza di abbondante muco in trachea. In tabella 7.1 sono mostrati i risultati ottenuti dalla conta differenziale.



	% Mac	% Linf	% PMN	% EO	% MC	% emos
IAD eosinoflica	56, 28 ± 15, 21	24, 29 ± 9, 63	9, 14 ± 5, 64	10, 43 ± 4, 62	-	6 ± 8, 83
IAD mista	60, 45 ± 14, 76	23, 15 ± 13, 44	14, 45 ± 9, 52	1, 8 ± 1, 87	-	5, 65 ± 6, 20
EIPH	76, 75 ± 5, 07	11, 25 ± 8, 07	5, 75 ± 4, 82	4, 33 ± 0, 94	-	9, 25 ± 5, 63
RAO	41, 83 ± 4, 84	10, 33 ± 3, 49	46, 5 ± 6, 8	1, 6 ± 1, 85	0	0

Tabella 7.1: Risultati ottenuti. Mac: Macrofagi; Linf: Linfociti; PMN: Neutrofilii; EO: Eosinofili; MC: Mast-cell; % emos: percentuale emosiderofagi.

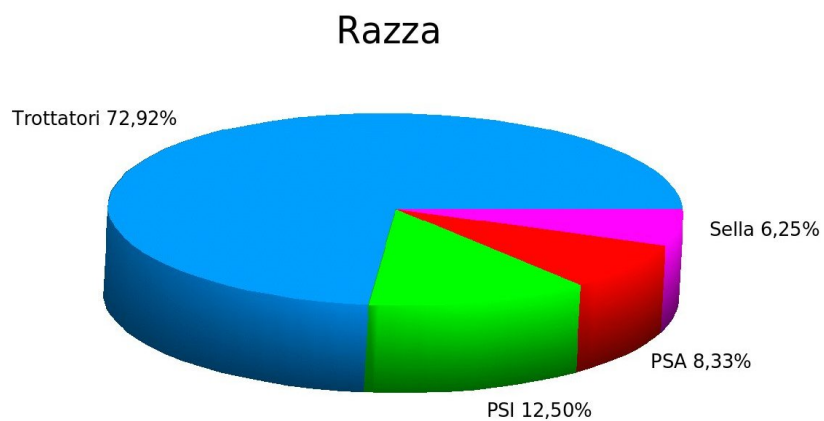


Figura 7.1: Distribuzione della popolazione per razza.

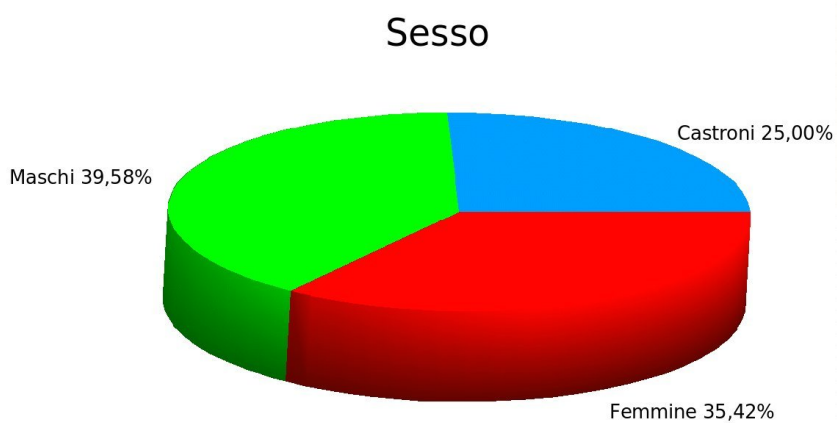


Figura 7.2: Distribuzione della popolazione per sesso.

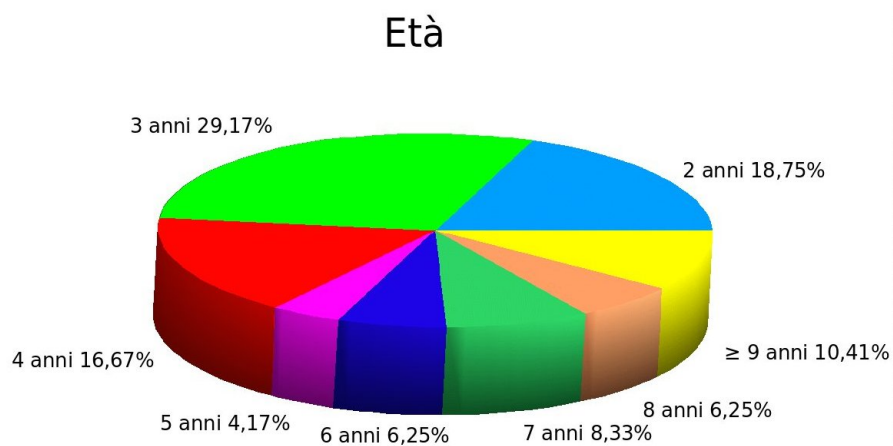


Figura 7.3: Distribuzione della popolazione per età.

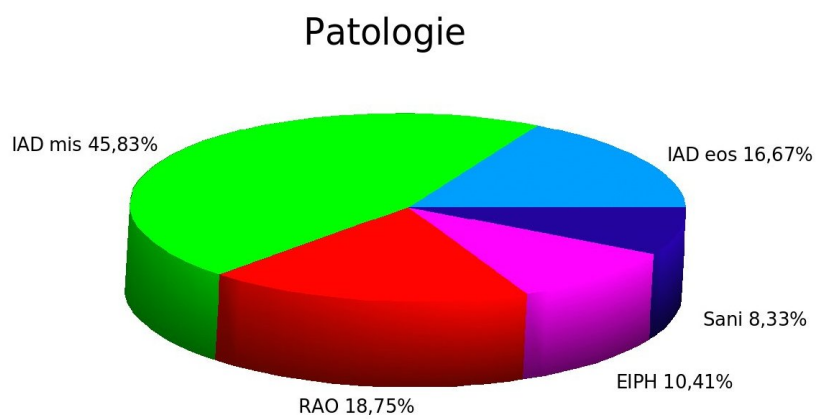


Figura 7.4: Prevalenza delle patologie nella popolazione esaminata ottenuta dall'esame citologico.

## CAPITOLO 8

### DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

L'esame citologico del lavaggio broncoalveolare in teoria non dovrebbe offrire difficoltà perché i macrofagi alveolari, i linfociti, i neutrofili, gli eosinofili e i mastociti sono cellule facilmente identificabili. Eventuali errori possono insorgere nell'interpretazione scorretta delle cellule danneggiate, nella discriminazione tra i mononucleati (in particolare, tra linfociti e neutrofili con nucleo coartato), e tra alcuni monociti e cellule epiteliali. Al fine di limitare gli inevitabili errori umani, le cellule la cui morfologia appariva poco chiara non sono state considerate nella conta differenziale anche alla luce di una disamina della letteratura specialistica che mette in evidenza differenze tra i risultati ottenuti tra i vari Autori [141][142][110][46][30][36][29][16].

I risultati ottenuti dall'esame dei lavaggi broncoalveolari sono relativamente in linea con quelli riportati dalla letteratura corrente, sebbene la percentuale di IAD diagnosticata (62,5%) sia superiore a quella di altri Autori [16]. Le differenze potrebbero derivare dal fatto che la popolazione in esame è rappresentata in larga misura da trottatori molto giovani ( $48,9\% \leq 3aa$ ) ed è interessante rilevare che la IAD di tipo eosinofilo sia stata osservata in un gruppo di soggetti mediamente più giovane ( $2,71 \pm 0,95$ ) rispetto alla IAD di tipo misto ( $3,27 \pm 1,03$ ). Purtroppo il numero esiguo di animali impone prudenza nella valutazione di questo risultato. Comunque, in particolare per quello che riguarda i casi di IAD, è ipotizzabile che le differenze osservate nella popolazione non siano sempre espressione di diversità patogenetiche, ma di un insieme di fattori quali ad esempio età di insorgenza della malattia, differente stadio evolutivo dell'affezione, differenti condizioni ambientali, differenze nell'allenamento, della temperatura e dell'umidità relativa, infezioni pregresse, presenza associata di emorragia polmonare, etc.

Nella disamina dei risultati sono state osservate alcune differenze nelle percentuali dei linfociti e dei mastociti che sono risultate in numero costantemente inferiore a quelle rilevate da altri Autori [141][30][36][46].

Per quanto riguarda la percentuale dei linfociti non è stata trovata una giustificazione attendibile, mentre l'esiguo numero di mastociti rilevato è da attribuirsi ad una scarsa specificità dei coloranti impiegati, ad esclusione dei casi analizzati utilizzando il Blu di Toluidina.

L'esperienza accumulata e le difficoltà incontrate nell'interpretare i risultati delle letture dei preparati citologici portano a riflettere su alcuni aspetti di questo interessante strumento diagnostico:

- a causa della metodologia non standardizzata nei lavori dei diversi Autori per l'allestimento e la colorazione dei preparati citologici, e soprattutto per il fatto che non risulta chiaro come debba essere interpretata la presenza di cellule intrappolate nel muco (sia per l'analisi al contattocellule che per la conta differenziale), si ritiene che per dare credibilità alla conta totale, tramite contattocellule automatico, debba essere considerata l'interferenza del muco che intrappolando le cellule non le rende disponibili per la lettura. Per questo dovrebbe essere almeno quantificata la concentrazione di muco, per esempio leggendo il campione allo spettrofotometro a lunghezze d'onda di circa 640 nm, allo scopo di definire se la conta totale risulta adeguata o meno quando si osserva il preparato citologico al microscopio;
- si ritiene utile stabilire i valori di riferimento che considerino, non solo la percentuale, ma anche il numero totale dei singoli elementi cellulari, come ad esempio viene fatto nell'esame emocromocitometrico;
- si è rilevato che in nessun articolo viene considerata l'attivazione cellulare, in particolare dei macrofagi, che in alcuni soggetti mostrano chiari segni di iperattività e che talvolta sono presenti anche come cellule giganti.

In conclusione si ritiene che i risultati del BAL e del TW, nella valutazione dei problemi polmonari delle basse vie, debbano essere considerati solo come esami collaterali e che i rilievi citologici debbano essere valutati criticamente insieme agli altri dati clinici. Partendo dal presupposto che queste affezioni forniscono poche indicazioni cliniche è auspicabile una migliore raccolta dell'anamnesi remota, ambientale e sportiva che purtroppo, per ragioni logistiche, in ippologia non sempre è possibile ottenere.

## BIBLIOGRAFIA

- [1] Hodgson DR and Rose RJ. *The Athletic horse: principles and practice of equine sports medicine*. W. B. Saunders Company, 1994.
- [2] Moore BR, Krakowka S, Mcvey DS, Cummins JM, and Robertson JT. Inflammatory markers in bronchoalveolar lavage fluid of Standardbred racehorses with inflammatory airway disease: response to interferon-alpha. *Equine Vet J*, 29 (2), pages 142–147, 1997.
- [3] Aguggini G, Beghelli V, and Giulio LF. *Fisiologia degli animali domestici con elementi di etologia*. UTET, 1998.
- [4] Pelagalli GV and Botte V. *Anatomia veterinaria. Sistematica e comparata*. edi-ermes, 1999.
- [5] Hakim TS, Lisbona R, and Dean GW. Gravity-independent inequality in pulmonary blood flow in human. *J Appl Physiol*, 63, pages 1114–1121, 1987.
- [6] Reed SM, Bayly WM, and Sellon DC. *Equine Internal Medicine*. Saunders, 2002.
- [7] Bizzeti M. *Lezioni di diagnostica di laboratorio*. SEU, 2005.
- [8] Adams HR. *Farmacologia e terapeutica veterinaria*. EMSI Roma, 1999.
- [9] Robinson NE. Pharmacology of the Equine Tracheobronchial Tree. In *AAEP PROCEEDINGS*, 1997.
- [10] Horohov DW. Immunology of the Equine Lung. In *Equine Respiratory Disease*, P. Lekeux (Ed.). International Veterinary Information Service, Ithaca, New York, USA, 2004.

- 
- [11] Ceriana R. Significato clinico della valutazione della clearance mucociliare nell'apparato respiratorio del cavallo. *Ippologia*, Anno 10 (1), pages 61–64, 1999.
- [12] Poli G and Cocilovo A. *Microbiologia e Immunologia Veterinaria*. UTET, 1996.
- [13] Banks EM, Kyriakidou M, and Little S. Epithelial lymphocyte and macrophage distribution in the adult and fetal equine lung. *J Comp pathol*, 120, pages 1–13, 1999.
- [14] Burrell MH. Endoscopic and virological observations on respiratory disease in a group of young Thoroughbred horses in training. *Equine Vet J*, 17, pages 99–103, 1985.
- [15] Moore BR, Krakowka S, and Cummins JM. Changes in airway inflammatory cell populations in Standardbred racehorses after interferon-alpha administration. *Vet Immunol Immunopathol*, 49, pages 347–358, 1996.
- [16] Rush B and Mair T. *Equine Respiratory Disease*. Blackwell Publishing Co Oxford, UK, 2004.
- [17] Ferro E, Ferrucci F, and Zucca E. IAD: Malattia infiammatoria delle basse vie aeree del giovane cavallo atleta. *Il Progresso Veterinario*, 53, pages 889–893, 1998.
- [18] Raidal S, Love D, and Bailey G. Effect of a single bout of high intensity exercise on lower respiratory tract contamination in the horse. *Aust Vet J*, 75, pages 293–295, 1997.
- [19] Holcombe SJ, Robinson NE, and *et ali*. Effect of tracheal mucus and tracheal cytology on racing performance in thoroughbred racehorses. *Equine Vet J*, 38 (4), pages 300–304, 2006.
- [20] Hobo S, Oikawa M, Kuwano A, Yoshida K, and Yoshihara. Effect of transportation on the composition of bronchoalveolar lavage fluid obtained from horses. *Am J Vet Res*, 58 (5), pages 531–534, 1997.
- [21] Raidal S, Bailey G, and Love D. Effect of transportation on lower respiratory tract contamination and peripheral blood neutrophil function. *Aust Vet J*, 75, pages 433–438, 1997.

- [22] Burrell MH, Wood J, and *et ali*. Respiratory disease in Thoroughbred horses in training: the relationships between disease and viruses, bacteria and environment. *Vet Rec*, 139, pages 308–313, 1996.
- [23] Christley RM, Hogson DR, and Rose RJ et al. A case-control study of respiratory disease in throughbred racehorses in Sydney, Australia. *Equine Vet J*, 33, pages 256–264, 2001.
- [24] Newton JR, Wood JL, and Chanter N. A case control study of factors and infections associated with clinically apparent respiratory disease in UK thoroughbred racehorses. *Prev Vet Med*, 60 (1), pages 107–132, 2003.
- [25] Slater JS and Hannant D. Equine immunity to viruses. *Vet Clin North Am Equine Pract*, 16 (1), pages 49–68, 2000.
- [26] Chapman P, Green C, and Main J. Retrospective study of the relationships between age, inflammation and isolation of bacteria from lower respiratory tract of Throughbred. *Vet Rec*, 146, pages 91–95, 2000.
- [27] Nuytten J, Muylle E, and Oyaert W. Cytology, bacteriology and phagocytic capacity of tracheo-bronchial aspirates in healthy horses with chronic obstructive pulmonary disease (copd). *Zbl Vet Med A*, 30, pages 114–120, 1983.
- [28] Sweeney CR, Beech J, and Roby KAW. Bacterial isolates from tracheobronchial aspirates of healthy horses. *Am J Vet Res*, 46 (12), pages 2562–2565, 1985.
- [29] Moore BR. Lower Respiratory tract Disease. *Vet Clin North Am Equine Pract*, 12 (3), pages 457–472, 1996.
- [30] Viel L. Lower inflammation in young performance horses. In *Current Therapy in Equine Medicine*, 4<sup>th</sup> ed. Saunders Co, Philadelphia, USA, 2003.
- [31] Wood JLN, Burrell MH, Roberts CA, and Shaw Y. Streptococci and *Pasteurella* spp. associated with disease of the equine lower respiratory tract. *Equine Vet J*, 25 (4), pages 314–318, 1993.
- [32] Wood JL, Newton JR, Chanter N, and Mumford JA. Association between respiratory disease and bacterial and viral infections in british racehorses. *J Clin Microbiol*, 43(1), pages 120–126, 2005.



- [33] Wood P, Robinson N, and Shawson M. Airborne dust and aeroallergen concentration in a horse stable under two different management systems. *Equine Vet J*, 25, pages 208–213, 1993.
- [34] McGurum BC, Ellison J, and Cullen R. Total and respirable airborne dust endotoxin concentrations in three equine management systems. *Equine Vet J*, 30, pages 430–434, 1998.
- [35] Ferrucci F, Croci C, Di Fabio V, and Ferro E. Valutazione clinica e strumentale delle affezioni delle basse vie respiratorie nel cavallo atleta. In *Seminario: Principali problematiche cardiovascolari e polmonari nella sindrome da non rendimento del cavallo atleta*, Pisa, 2003.
- [36] Viel L. Small airway disease as a vanguard for chronic obstructive pulmonary disease. *Vet Clin North Am Eq Prac*, 12, pages 457–472, 1997.
- [37] Mair TS and Derksen FJ. Chronic obstructive pulmonary disease: a review. *Equine Vet Educ*, 12 (1), pages 35–44, 2000.
- [38] Christley R. Inflammatory airway disease in young thoroughbreds and comparison with chronic obstructive pulmonary disease. In *Proceeding of the 39<sup>th</sup> BEVA Congress, Birmingham*, 2000.
- [39] Christley RM, Hogson DR, and Rose RJ et al. Coughing in throughbred racehorses: risk factors and tracheal endoscopic and cytological findings. *Vet Rec*, 148, pages 99–104, 2001.
- [40] Durando MM, Martin BB, Davidson RJ, and Birk EK. Correlations between exercising arterial blood gas values, tracheal wash findings and upper respiratory tract abnormalities in horses presented for poor performance. *Equine Vet J Suppl*, 36, pages 523–528, 2006.
- [41] Couetil L, Rosenthal D, and DeNicola D. Clinical signs, evaluation of bronchoalveolar lavage fluid, and assessment of pulmonary function in horses with inflammatory respiratory disease. *Am J Vet Res*, 62, pages 538–546, 2001.
- [42] Mazan MR, Vin R, and Hoffman AM. Radiographic scoring lacks predictive value in inflammatory airway disease. *Equine Vet J*, 37 (6), pages 541–545, 2005.
- [43] Moore BR, Krakowka S, Mc Vey DS, Cummins JM, and Robertson JT. Cytologic evaluation of bronchoalveolar lavage fluid obtained from

- Standardbred racehorses with inflammatory airway disease. *Am J Vet Res*, 56 (5), pages 562–567, 1995.
- [44] Bain FT. Cytology of the respiratory tract. *Vet Clin North Am Equine Pract*, 13 (3), pages 477–486, 1997.
- [45] Hoffman AM. Bronchoalveolar lavage technique and cytological diagnosis of small airway inflammatory disease. *Equine Vet Educ*, 11 (6), pages 330–336, 1999.
- [46] Ferrucci F, Croci C, Di Fabio V, and Ferro E. Classificazione citologica di IAD/SAID in base ai reperti del fluido di lavaggio broncoalveolare di 70 cavalli da competizione affetti da poor performance. In *Atti LIV Congresso Nazionale SISVet, Riva del Garda*, 2000.
- [47] Viel L and Hewson J. Bronchoalveolar lavage. In *Current Therapy in Equine Medicine*, 5<sup>th</sup> ed. Saunders Co, Philadelphia, USA, 2003.
- [48] Hoffman AM. Inflammatory airway diseases: definitions and diagnosis in the performance horse. In *Current Therapy in Equine Medicine*. Saunders Co, Philadelphia, USA, 2003.
- [49] McGurum BC, Dixon PM, and Halliwell REW. Phenotypic analysis of peripheral blood and bronchoalveolar lavage fluid lymphocytes in control and chronic obstructive pulmonary disease affected horses, before and after natural (hay and straw) challenges. *Vet Immunol Immunopathol*, 363, pages 207–222, 1993.
- [50] Robinson NE. Pathogenesis and management of airway disease. In *AAEP PROCEEDINGS*, 1997.
- [51] Leguillette R. Recurrent airway obstruction-heaves. *Vet Clin Equine Pract*, 19, pages 63–86, 2003.
- [52] Derksen FJ. Oxidant injury and nitric oxide: a role in exercise-induced pulmonary haemorrhage? *Vet J*, 153 (2), pages 119–121, 1997.
- [53] Lavoie JP. Heaves (Recurrent Airway Obstruction): practical management of acute episodes and prevention of exacerbations. In *Current Therapy in Equine Medicine*, 5<sup>th</sup> ed. Saunders Co, Philadelphia, USA, 2003.
- [54] Moore BR, Krakowka S, Cummins JM, and Robertson JT. Changes in airway inflammatory cell populations in Standardbred racehorses

- after interferon-alpha administration. *Vet Immunol Immunopathol*, 49, pages 347–358, 1996.
- [55] Seahorn TL, Carter GK, Martens JG, and *et ali*. Effects of human alpha interferon on experimentally induced equine herpesvirus-1 infection in horses. *Am J Vet Res*, 51 (12), pages 2006–2010, 1990.
- [56] Moore I, Horney B, Day Kendra, Lofstedt J, and Cribb AE. Treatment of inflammatory airway disease in young standardbreds with interferon alpha. *Can Vet J*, 45, pages 594–601, 2004.
- [57] Beech J. Chronic obstructive pulmonary disease. *Vet Clin North Am Equine Pract*, 7, pages 79–91, 1991.
- [58] Pierie R, Collie D, Dixon P, and McGorum B. Inhaled endotoxin and organic dust particulates have synergistic proinflammatory effects in equine heaves (organic dust-induced asthma). *Clin Exp Allergy*, 33, pages 676–683, 2003.
- [59] Pierie R, Dixon P, and McGorum B. Endotoxin contamination contributes to the pulmonary inflammatory and functional response to aspergillus fumigatus extract inhalation in heaves horses. *Clin Exp Allergy*, 33, pages 1289–1296, 2003.
- [60] Tesarowski DB, Viel L, and McDonnell WN. Pulmonary function measurements during repeated environmental challenge of horses with recurrent airway obstruction (heaves). *Am J vet Res*, 57, pages 1214–1219, 1996.
- [61] Joubert P, Cordeau ME, Boyer A, and *et ali*. Quantification of mRNA expression by peripheral neutrophils in an animal model of asthma. *Am J Respir Crit Care Med*, 165, page A 317, 2002.
- [62] Gray PR, Derksen FJ, and Robinson NE. The role of cyclooxygenase products in the acute airway obstruction and airway hyperreactivity of ponies with heaves. *Am Rev Respir Dis*, 140, pages 154–160, 1989.
- [63] Doucet MY and Viel L. Clinical, radiographic, endoscopic, bronchoalveolar lavage and lung biopsy findings in horses with exercise-induced pulmonar hemorrhage. *Can Vet J*, 43, pages 195–202, 2002.
- [64] Marr KA, Lees P, Page CP, and *et ali*. Inhaled leukotrienes cause bronchoconstriction and neutrophil accumulation in horses. *Res Vet Sci*, 64, pages 219–224, 1998.

- [65] Lavoie JP, Leguillette R, Charrette L, and *et ali*. Comparison of dexamethasone and the ltr4 receptor antagonist l-708, 738 in an equine copd model. *Am J Respir Crit Care Med*, 161, page A 185, 2000.
- [66] Lindberg A, Barbro Näsman-Glaser B, Lindgren JA, and Robinson NE. Evaluation of leukotriene biosynthetic capacity in lung tissues from horses with recurrent airway obstruction. *Am J Vet Res*, 63 (6), pages 794–798, 2002.
- [67] McPherson EA, Lawson GHK, Murphy JR, and *et al*. Chronic obstructive pulmonary disease (copd): identification of affected horses. *Equine Vet J*, 10, pages 47–53, 1978.
- [68] Larson VL and Busch RH. Equine tracheobronchial lavage: comparison of lavage cytologic and pulmonary histopathologic findings. *Am J Vet Res*, 46, pages 144–146, 1985.
- [69] Morris EA and Seherman HJ. Clinical evaluation of poor performance in the racehorse: the results of 275 evaluations. *Equine Vet J*, 23, pages 169–174, 1991.
- [70] Bracher V, von Fellenberg JL, and Winder CN. An investigation of the incidence of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) in random populations of Swiss horses. *Equine Vet J*, 23, pages 136–141, 1991.
- [71] Derksen FJ, Robinson NE, and Scott JS. Aerosolized Micropolyspora faeni antigen as a cause of pulmonary dysfunction in ponies with recurrent airway obstruction (heaves). *J Vet Res*, 49, pages 933–938, 1989.
- [72] Lowell FC. Observations on heaves. An asthma-like syndrome in the horse. *Allergy Proc*, 11, pages 147–150, 1990.
- [73] Gerber V, King M, and Schneider DA. Tracheobronchial mucus viscoelasticity during environmental challenge in horses with recurrent airway obstruction. *Equine Vet J*, 32, pages 411–417, 2000.
- [74] Tremblay C, Ferland C, Lapointe JM, and *et ali*. Effect of stabling on bronchoalveolar cells obtained from normal and COPD horses. *Equine Vet J*, 25, pages 194–197, 1993.
- [75] Picandet V, Leguillette R, and Lavoie JP. Comparison of the effects of isoflupredone and dexametasone in the treatment of horses affected with recurrent airway obstruction (heaves). *Equine Vet J*, 35 (4), pages 419–424, 2003.

- [76] Holcombe SJ, Jackson C, Gerber V, and *et ali*. Stabling is associated with airway inflammation in young arabian horses. *Equine Vet J*, 33 (3), pages 244–249, 2001.
- [77] McGurum BC, Dixon PM, and Halliwell REW. Responses of horses affected with chronic obstructive pulmonary disease to inhalation challenges with mould antigens. *Equine Vet J*, 25, pages 261–267, 1993.
- [78] Pierie R, Dixon P, and Halliwell R. Pulmonary and systemic effects of inhaled endotoxin in control and heaves horses. *Equine Vet J*, 33, pages 244–249, 2001.
- [79] Art T, Frank T, Lekeux P, de Moffarts B, Coutil L, and *et ali*. Myeloperoxidase concentration in bronchoalveolar lavage fluid from healthy horses and those with recurrent airway obstruction. *Can J Vet Res*, 70, pages 291–296, 2006.
- [80] Leguillette R and Lavoie JP. Effects of the bronchoalveolar lavage procedure on lung function in horses with clinical exacerbation of recurrent airway obstruction. *Am J Vet Res*, 67(11), pages 1929–1933, 2006.
- [81] Mair TS. Bacterial pneumonia associated with corticosteroid therapy in three horses. *Vet Rec*, 138 9, pages 205–207, 1996.
- [82] Robinson NE, Jackson CA, and Jefcoat A. Efficacy of three corticosteroids for the treatment of heaves. *Equine Vet J*, 34, pages 17–22, 2002.
- [83] Traub-Dargatz JL, McKinnon AO, Thrall MA, and *et ali*. Evaluation of clinical signs of disease, bronchoalveolar and tracheal wash analysis, and arterial blood gas tensions in 13 horses with chronic obstructive pulmonary disease treated with prednisone, methyl sulfonmethane, and clenbuterol hydrochloride. *Am J Vet Res*, 53, pages 1908–1916, 1992.
- [84] Jackson CA, Berney C, Jefcoat AM, and *et ali*. Environment and prednisone interactions in the treatment of recurrent airway obstruction (heaves). *Equine Vet J*, 32, pages 432–438, 2000.
- [85] Rhoads WS *et ali* Rush B, Raub ES. Pulmonary function in horses with recurrent airway obstruction after aerosol and parenteral administration of beclomethasone dipropionate and dexamethasone, respectively. *Am J Vet Res*, 59, pages 1039–1043, 1998.

- [86] Lapointe JM, Lavoie JP, and Vrins A. Effects of triamcinolone acetonide on pulmonary function and bronchoalveolar lavage cytologic features in horses with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Vet Res*, 54, pages 1310–1316, 1993.
- [87] Ammann VJ, Vrins AA, and Lavoie JP. Effects of inhaled beclomethasone dipropionate on respiratory function in horses with chronic obstructive pulmonary disease (copd). *Equine Vet J*, 30, pages 152–157, 1998.
- [88] Barnes PJ. The role of inflammation and anti-inflammatory medication in asthma. *Respir Med*, 96 (Suppl A) (3), pages S9–15, 2002.
- [89] Giguere S, Viel L, and Lee E. Cytokine induction in pulmonary airways of horses with heaves and effect on therapy with inhaled fluticasone propionate. *Vet Immunol Immunopathol*, 85, pages 147–158, 2002.
- [90] Jean D, Lavoie JP, and Vrins A. Respiratory effects of massive saline infusion in copd horses. In *Proceedings of the 14 Annual American College of Veterinary International Medicine Forum, San Antonio*, 1996.
- [91] Hillidge CJ and Whitlock TW. Sex variation in the prevalence of exercise-induced pulmonary hemorrhage in racing Quarter horses. *Res Vet Sci*, 40, pages 406–407, 1986.
- [92] Sweeney CR. Exercise-induced pulmonary hemorrhage. *Vet Clin North Am Equine Pract*, 42, pages 220–226, 1991.
- [93] Birks EK, Durando MM, and McBride S. Exercise-induced pulmonary hemorrhage. *Vet Clin North Am Equine Pract*, 19 (1), pages 87–100, 2003.
- [94] Takahashi T, Hiraga A, Ohmura H, and *et ali*. Frequency of and risk factors for epistaxis associated with Exercise-induced pulmonary haemorrhage in horses: 251,609 race starts. *J Am Vet Med Ass*, 218, pages 1462–1464, 2001.
- [95] Pascoe JR, Ferraro GL, Cannon JH, and *et ali*. Exercise-induced pulmonary haemorrhage in racing throughbreds: a preliminary study. *Am J Vet Res*, 42, pages 703–707, 1981.

- [96] McClay CB, Weiss DJ, Smith CM, and et ali. Evaluation of hemorheologic variables as implications for exercise-induced pulmonary haemorrhage in racing throughbred. *Am J Vet Res*, 53, pages 1380–1385, 1992.
- [97] Weiss DJ and Smith CM. Haemorrhological alterations associated with competitive racing activity in horses: implicatons for exercise-induced pulmonary haemorrhage (eiph). *Equine Vet J*, 30, pages 7–12, 1998.
- [98] Erickson HH, Bernard SL, Glenney RW, and et ali. Effect of furosemide on pulmonary blood flow distribution in resting and exercising horses. *J Appl Physiol*, 86, pages 2034–2043, 1999.
- [99] Schroter RC, Leeming A, Denny E, and et ali. Modeling impact-initiated wave transmission through lung parenchyma in relation to the aetiology of exercise-induced pulmonary haemorrhage. *Equine Vet J Suppl*, 30, pages 34–38, 1999.
- [100] Ducharme NG, Hackett RP, and Gleed RD. Pulmonary capillary pressure in horses undergoing alteration of pleural pressure by imposition of various upper airway resistite loads. *Equine Vet J Suppl*, 30, pages 27–33, 1999.
- [101] Erickson HH and Poole DC. Exercise-induced pulmonary hemorrhage. In *Equine respiratory disease*. Lekeux P, Ithaca, NY, 2002.
- [102] TS Meyer, M.R. Fedde, and E.M. Gaughan. Quantification of exercise-induced pulmonary haemorrhage with bronchoalveolar lavage. *Equine Vet J*, 30, pages 284–288, 1998.
- [103] Langsetmo I, Fedde MR, Meyer TS, and et ali. Relationship of pulmonary arterial pressure to pulmonary haemorrhage in exercising horses. *Equine Vet J*, 32, pages 379–384, 2000.
- [104] Doucet MY and Viel L. Clinical, radiographic, endoscopic, bronchoalveolar lavage and lung biopsy findings in horses with exercise-induced pulmonary hemorrhage. *Can Vet J*, 43 (3), pages 195–202, 2002.
- [105] O’Callaghan MW, Pascoe JR, Tyler WS, and Mason DK. Exercise-induced pulmonary haemorrhage in the horse: results of a detailed clinical, post mortem and imaging study. VIII. conclusions and implications. *Equine Vet J*, 19 (5), pages 428–434, 1987.

- [106] Marlin DJ. Sampling, Microbiology and Cytology of the Respiratory Tract. In *Current Therapy in Equine Medicine*, 5<sup>th</sup> ed. Saunders Co, Philadelphia, USA, 2003.
- [107] Newton JR and Wood JL. Evidence of an association between inflammatory airway disease and EIPH in young thoroughbred during training. *Equine Vet J Suppl*, 34, pages 417–424, 2002.
- [108] McKane SA and Slocombe RF. Sequential changes in bronchoalveolar cytology after autologous blood inoculation. *Equine Vet J Suppl*, 30, pages 126–130, 1999.
- [109] Birks EK, Shuler KM, and Soma LR. Eiph:postrace endoscopic evaluation of standardbred and throughbred. *Equine Vet J Suppl*, 34, pages 275–278, 2002.
- [110] Fogarty U and Buckley T. Bronchoalveolar lavage findings in horses with exercise intolerance. *Equine Vet J*, 23 (6), pages 434–437, 1991.
- [111] Freeman KP, Step DL, and Gleed RD. Comparison of endoscopic tracheal washing, bronchoalveolar lavage and visual detection of blood following instillation of blood into the airways of horses. *J Equine Vet Sci*, 16, pages 380–383, 1996.
- [112] Hoffman AM, Mazan MR, and Ellenberg S. Association between bronchoalveolar lavage cytologic features and airway reactivity in horses with history of exercise intolerance. *Am J Vet Res*, 59, pages 176–179, 1998.
- [113] Oikawa M. Exercise-induced hemorrhagic lesions in the dorso-caudal extremities of the caudal lobes of the lungs of young Thoroughbred horses. *J Comp Pathol*, 121, pages 339–347, 1999.
- [114] Hinchcliff KW, Jackson MA, and Morley PS. Association between exercise-induced pulmonary hemorrhage and performance in Thoroughbred racehorses. *J Am Vet Ass*, 227 (5), pages 768–774, 2005.
- [115] Fio L. Lasix works to stop bleeding in racehorses. *J Equine Sci*, 14, pages 381–382, 1994.
- [116] Soma LR and Uboh CE. Review of furosemide in horse racing: its effects and regulation. *J Vet Pharm Ther*, 21, pages 228–240, 1998.



- [117] Geor RJ, Ommundson L, and Fenton G. Effects of an external nasal strip and furosemide on pulmonary hemorrhage in Thoroughbreds following high-intensity exercise. *Equine Vet J*, 33, pages 537–539, 2001.
- [118] Hinchcliff KW and Byrne BA. Clinical Examination of the Respiratory Sistem. *Vet Clin North Am Equine Pract*, 7 (1), pages 1–26, 1991.
- [119] Pascoe JR. Exercise-induced pulmonary haemorrhage: a unifying concept. *Proc Am Assoc Equine Pract*, 42, pages 220–226, 1996.
- [120] Ferrucci F, Zucca E, Croci C, Di Fabio V, and Ferro E. Polmonite e pleuropolmonite batterica nel cavallo atleta: 17 casi clinici (2000-2002). In 5° *Convegno Nazionale della Società Italiana di Ippologia*, 2003.
- [121] Kinding CA, McDonough P, Fenton G, and *et ali*. Efficacy of nasal strip and furosemide in mitigating EIPH in Thoroughbreds horses. *J Appl Physiol*, 91, pages 1396–1400, 2001.
- [122] Traub-Dargatz JL. Bacterial Pneumonia. *Vet Clin North Am Equine Pract*, 7 (1), pages 53–61, 1991.
- [123] Chaffin MK and Carter GC. Bacterial pleuropneumonia. In *Current Therapy in Equine Medicine*, 4<sup>th</sup> ed. Saunders Co, Philadelphia, USA, 1997.
- [124] Wilkins PA. Lower airway diseases of the adult horse. *Vet Clin North Am Eq Prac*, 19, pages 101–121, 2003.
- [125] Hewson J and Viel L. Sampling, Microbiology and Cytology of the Respiratory Tract. In *Equine Respiratory Disease*, P. Lekeux (Ed.). International Veterinary Information Service, Ithaca, New York, USA, 2002.
- [126] Papich MG. Antimicrobial Therapy for Horses. In *Current Therapy in Equine Medicine*, 5<sup>th</sup> ed. Saunders Co, Philadelphia, USA, 2003.
- [127] Andrews FM. Poor performance and field evaluation of the respiratory sistem. *Vet Clin North Am Equine Pract*, 13 (3), pages 589–600, 1997.
- [128] Mansmann RA and Knight HD. Transtracheal aspiration in the horse. *J Am Vet Med Assoc*, 160, pages 1527–1529, 1972.
- [129] Beech J. Cytology of tracheobronchial aspirates in horses. *Vet Pathol*, 12, pages 157–164, 1975.

- 
- [130] Viel L. Structural-functional correlations of the lung in the normal light horse. Master's thesis, University of Guelph, Ontario, Canada, 1980.
- [131] Taylor FGR and Hillyer MH. *Diagnostic techniques in equine medicine*. Saunders, Philadelphia, 1997.
- [132] Hoffman AM and Viel L. Techniques for sampling the respiratory tract of horses. *Vet Clin North Am Equine Pract*, 13 (3), pages 463–475, 1997.
- [133] Hodgson JL and Hodgson DR. Tracheal aspirates: indications, technique, and interpretation. In *Current Therapy in Equine Medicine*. 5<sup>th</sup>. Saunders Co, Philadelphia, USA, 2003.
- [134] Roy MF and Lavoie JP. Tools for the diagnosis of equine respiratory disorders. *Vet Clin North Am Equine Pract*, 19, pages 1–17, 2003.
- [135] Beech J. Technique of tracheobronchial aspirates in the horse. *Equine Vet J*, 13, pages 136–137, 1981.
- [136] Mair TS, Stokes CR, and Bourne FJ. Cellular content of secretions obtained by lavage from different levels of equine respiratory tract. *Equine Vet J*, 19, pages 458–462, 1987.
- [137] Viel L, Hewson J, and Smart N. Bacterial isolates from TA and BAL fluid using guarded or non-guarded endoscopy in racehorses. In *Proceedings Comp Resp Soc Symp*, 1999.
- [138] Darien BJ, Brown CM, and Walker RD. A tracheoscopic technique for obtaining uncontaminated lower airway secretions for bacterial culture in the horse. *Equine Vet J*, 22, pages 170–173, 1990.
- [139] Christley RM, Hogson DR, and Rose RJ et al. Comparison of bacteriology and cytology of tracheal fluid sample collected by percutaneous transtracheal aspiration or via an endoscope using a plugged, guarded catheter. *Equine Vet J*, 31, pages 197–202, 1999.
- [140] Viel L, Hewson J, and Marak S. Tracheal and bronchoalveolar lavage cell differentials in poor performance horses. In *Proceedings Comp Resp Soc Symp*, 2000.

- 
- [141] Hare JE, Viel L, and O'Byrne PM. Effect of sodium cromoglycate on light racehorses with elevated metachromatic cell numbers on bronchoalveolar lavage and reduced exercise tolerance. *J Vet Pharmacol Therap*, 17, pages 237–244, 1994.
- [142] Hare JE and Viel L. Pulmonary eosinophilia associated with increased airway responsiveness in young racing horses. *J Vet Inter Med*, 12, pages 163–170, 1998.
- [143] McGurum BC, Dixon PM, and Halliwell REW. Comparison of cellular and molecular components of bronchoalveolar lavage fluid harvested from different segment of equine lung. *Res Vet Sci*, 55, pages 57–59, 1993.
- [144] Fogarty U. Evaluation of a bronchoalveolar lavage technique. *Equine Vet J*, 22, pages 174–176, 1990.
- [145] McKane SA and Rose RJ. Radiographic determination of the location of a blindly passed bronchoalveolar lavage catheter. *Equine Vet Educ*, 5, pages 329–332, 1993.
- [146] Sweeney CR, Rossier, and Ziemer. Effects of lung site and fluid volume on results of bronchoalveolar lavage fluid analysis in horses. *Am J Vet Res*, 53, pages 1376–1379, 1992.
- [147] Robinson NE. International workshop on equine chronic airway disease michigan state university, 16-18 june 2000. *Equine Vet J*, 33, pages 5–19, 2001.
- [148] Sweeney CR, Rossier Y, and Ziemer EL. Effect of prior lavage on bronchoalveolar lavage fluid cell population of lavaged and unlavaged lung segments in horses. *Am J Vet Res*, 55 (11), pages 1501–1504, 1994.
- [149] Allen KJ, Tremaine WH, and Franklin SH. Prevalence of inflammatory airway disease in national hunt horses referred for investigation of poor athletic performance. *Equine Vet J Suppl*, 36, pages 529–534, 2006.
- [150] Hughes KJ, Malikides N, Hodgson DR, and Hogdson JL. Comparison of tracheal aspirates and bronchoalveolar lavage in racehorses 1. evaluation of cytological stains and the percentage of mast cell and eosinophils. *Aust Vet J*, 82 (11), pages 681–684, 2003.

- [151] Malikides N, Hughes KJ, Hodgson DR, and Hogdson JL. Comparison of tracheal aspirates and bronchoalveolar lavage in racehorses 2. evaluation of the diagnostic significance of neutrophil percentage. *Aust Vet J*, 81 (11), pages 681–684, 2003.
- [152] Crystal RG, Reynolds HY, and Kalica AR. Bronchoalveolar lavage. the report of an international conference. *Chest*, 90, pages 122–131, 1986.
- [153] Mordelet-Dambrine M, Arnoux A, and Stanislas-Leguern G. Processing of lung lavage fluid causes variability in bronchoalveolar cell count. *Am Rev Respir Dis*, 130, pages 305–306, 1984.
- [154] Lam S, LeRiche JC, and Kijek K. Effect of filtration and concentration on the composition of bronchoalveolar lavage fluid. *Chest*, 87, pages 740–742, 1985.
- [155] Willcox M, Kervitsky A, and Watters LC. Quantification of cell recovered by bronchoalveolar lavage: comparison of cytocentrifuge preparations with the filter method. *Am Rev Respir Dis*, 138, pages 74–80, 1988.
- [156] Nicholls R and Pirie RS. Filtration of bronchoalveolar lavage fluid results in the selective loss of cells. In *Proceeding World Equine Airways Soc Symp*, 2001.
- [157] McGurum BC, Dixon PM, and Halliwell REW. Evaluation of urea and albumen as endogenous markers of dilution of equine bronchoalveolar lavage fluid. *Res Vet Sci*, 55, pages 52–56, 1993.
- [158] Pickles KJ, Pirie S, Rhind S, Dixon PM, and McGorum BC. The effect of time, temperature and fixatives on cytological assessment of equine bronchoalveolar lavage fluid. In *Proceeding World Equine Airways Soc Symp*, 2001.
- [159] McGurum BC and Dixon PM. The analysis and interpretation of equine bronchoalveolar lavage fluid 8(balf) cytology. *Equine Vet Educ*, 6, pages 203–209, 1994.
- [160] Lapointe JM, Vrins A, and Lavoie JP. Effects of centrifugation and specimen preparation technique on bronchoalveolar lavage analysis in horses. *Equine Vet J*, 26, pages 227–229, 1994.
- [161] Saltini C, Hance AJ, and Ferrans VJ. Accurate quantification of cells recovered by bronchoalveolar lavage. *Am Rev Respir Dis*, 130, pages 650–658, 1984.

- [162] Laviolette M, Carreau M, and Coulombe R. Bronchoalveolar lavage cell differential on microscope glass cover: a simple and accurate techniques. *Am Rev Respir Dis*, 138, pages 451–457, 1988.
- [163] Nicholls R and Pirie RS. Preparation of bronchoalveolar lavage fluid cytology slides by cellular gravitation-method of preparation and comparison with cytospin preparations. In *Proceeding World Equine Airways Soc Symp*, 2001.
- [164] Di Fabio V, Ferrucci F, Zucca E, and Croci C. Emorragia polmonare da sforzo (eiph): diagnosi e valutazione citologica degli emosiderociti nel lavaggio broncoalveolare (bal) in 77 cavalli trottatori. In *Atti LVI Congresso Nazionale SISVet, Ischia (NA)*, 2003.
- [165] Leclere M, Desnoyers M, Beuchamp G, and Lavoie JP. Comparison of four staining methods for detection of mast cells in equine bronchoalveolar lavage fluid. *J Vet Int Med*, 20, pages 377–381, 2006.
- [166] Rossier Y, Sweeney CR, and Ziemer EL. Bronchoalveolar lavage fluid cytologic findings in horses with pneumonia or pleuropneumonia. *J Am Vet Med Assoc*, 198, pages 1001–1004, 1991.
- [167] Whitwell KE and Greet TR. Collection and evaluation of tracheo-bronchial washes in the horse. *Equine Vet J*, 16 (6), pages 499–508, 1984.
- [168] Hoffman AM, Viel L, and Staempfli HR. Sensitivity and specificity of bronchoalveolar lavage and protected catheter brush methods for isolating bacteria from foals with experimentally induced pneumonia caused by *Klebsiella pneumoniae*. *Am J Vet Res*, 54 (11), pages 1803–1807, 1993.
- [169] Grandguillot L, Fairbrother JM, and vrins A. Use of a protected catheter brush for culture of the lower respiratory tract in horses with small airway disease. *Can J Vet Res*, 55, pages 50–55, 1991.
- [170] Dixon PM. Ancillary diagnostic techniques for the investigation of equine pulmonary disease. *Equine Vet Educ*, 9, pages 72–80, 1997.
- [171] O'Brien RT and Biller DS. Field imaging of the respiratory tract. Radiology and Ultrasonography. *Vet Clin North Am Equine Pract*, 13 (3), pages 487–499, 1997.

- 
- [172] Chaffin MK and Carter GK. Pleuropolmonite batterica del cavallo. Segni clinici e valutazione diagnostica. *Ippologia*, 4, pages 29–46, 1994.
- [173] Martin B, Beech J, and Parente EJ. Cytologic examination of specimens obtained by means of tracheal washes performed before and after high-speed treadmill exercise in horses with a history of poor performance. *J Am Vet Med Ass*, 214 (5), pages 573–677, 1999.
- [174] Slocombe R. Bleeding in Racehorses. *Report for the Rural Industries Research and Development Corporation*, 99/168, 2000.

## RINGRAZIAMENTI

Desidero ringraziare innanzitutto il Prof. Michele Corazza e la Dott.ssa Micaela Sgorbini, non solo per avermi dato la possibilità di raggiungere questo importante traguardo, ma anche per gli insegnamenti e la fiducia accordata.

Un grazie va a tutti quelli con cui ho condiviso questi ultimi due anni a San Piero e in particolare ad Antonio, insostituibile compagno di turni.

Voglio cogliere l'occasione per ringraziare tutto lo staff degli allevamenti "La Piaggia" e "Il Colle" per avermi dato la possibilità di fare preziose esperienze.

Un grazie di cuore va a Tiziana, Elisa, Giulia P, Giulia B ed Ambra compagne di tante ore di lezione e di non poche avventure.

Grazie al mio immancabile portafortuna Gnappo largamente sfruttato in questi anni di università e ai miei gatti: Fru Fru, Dimitri e Schizzo (Psicho) che, con le loro fusa, mi hanno fatto compagnia durante tutta la stesura di questa tesi.

Un ringraziamento speciale va alla mia famiglia, mamma Manuela, babbo Quintilio e Graziano che mi hanno permesso, nonostante i sacrifici, di compiere questo primo passo verso la realizzazione del mio desiderio più grande. Grazie per la pazienza e per la grande fiducia in me.

Un pensiero va a Corrado che con la sua semplicità mi ha insegnato ad apprezzare le piccole cose, che in fondo, sono quelle che hanno più valore. Grazie.

Infine non esistono parole per esprimere la mia gratitudine a Lorenzo: il tuo affetto e aiuto sono stati fonte di incoraggiamento e conforto nei momenti difficili, il tuo sorriso e il tuo amore rendono speciali i momenti passati insieme.