

**Università degli Studi di Napoli Federico II**

**Facoltà di Medicina Veterinaria**

**Dipartimento di Scienze Cliniche Veterinarie**

**Sezione di Clinica Chirurgica**



**DOTTORATO DI RICERCA IN**

**SCIENZE CLINICHE E FARMACO - TOSSICOLOGICHE  
VETERINARIE**

**XXV CICLO**

***"CONGENITAL FLEXURAL DEFORMITY IN THE  
FOAL: CASE SERIES"***

**Coordinatore:**

Chiar.mo Prof. Paolo Ciaramella

**Docente guida:**

Chiar.mo Prof.ssa. Maria Pia Pasolini

**Candidata:**

Dott.ssa Valeria Uccello

**2010 – 2013**

## ***INTRODUZIONE***

Il termine “deformità flessorie” (Flexural Deformities, FD) descrive la deviazione di un arto sul piano sagittale in senso dorso-volare e si esprime come un’iperflessione di una o più articolazioni in uno o più arti (Auer 2006). Tale condizione patologica di iperflessione persistente è stata anche indicata come “contrattura tendinea”, sebbene nella maggior parte dei casi i tendini non siano, di fatto, contratti (Greet 2000; Auer 2006). Anche se descritte sin dal V secolo d.C. nella *Mulomedicina* di Vergerius, ad oggi la loro eziopatogenesi non è stata ancora del tutto chiarita (Wagner et al., 1982; Wagner e Waltrous 1990; Auer 2006). Le deformità flessorie possono essere congenite, cioè presenti dalla nascita, ma anche acquisite, se si sviluppano durante il periodo di accrescimento. Spesso, quando sono congenite, possono coinvolgere sia le articolazione dello scheletro appendicolare che assile. Nello scheletro assile la localizzazione più frequente è quella dell’articolazione del carpo, seguita dalla metacarpo/metatarsofalangea e infine dalla interfalangea distale; più raramente interessa il tarso, l’interfalangea prossimale e il gomito (Finocchio 1973; Embertson 1994; Auer 2004). Quando sono colpite le articolazioni

intervertebrali, il quadro clinico si manifesta con scoliosi, lordosi e cifosi (Rooney 1966; Finocchio 1973). Se ci sono deformità flessorie multiple agli arti, scoliosi o comunque deformità dello scheletro assile con malformazioni come asimmetrie o deviazioni laterali del cranio, assottigliamento dei muscoli della parete muscolare, le quali possono sfociare in vere e proprie ernie parietali, si parla di sindrome del puledro contratto (Contracted Foal Syndrome CFS) (Rooney 1966; Finocchio 1973; Lear e Bailey 2008). Quando presenti alla nascita le deformità flessorie possono essere causa di gravi perdite economiche per gli allevatori, in quanto spesso causa di distocie di difficile risoluzione. I puledri affetti, possono, presentare risposte alquanto variabile alla terapia e spesso la loro gestione comporta un notevole dispendio di tempo e di denaro a fronte di una prognosi incerta, sia per il recupero funzionale degli arti coinvolti che per il futuro agonistico del soggetto. Varie sono le ipotesi eziopatogenetiche proposte, e solo alcune di esse hanno trovato finora conferma sperimentale. In medicina umana, le deformità flessorie e l'ipotonia nei neonati sono segni clinici aspecifici e molto spesso sono associati a disordini neuromuscolari, encefalopatie e neuropatie (Vasta et al., 2005). Sulla base dell'esame clinico è stato proposto di inquadrare le

patologie caratterizzate da debolezza muscolare, contratture, ridotto range di movimento degli arti come disordine neuromuscolare; mentre movimenti anomali, convulsioni e riduzione del visus costituiscono i sintomi caratterizzanti le disfunzioni del sistema nervoso centrale (Dubowitz 1980). Debolezza e contrattura degli arti sono risultati i sintomi più sensibili e specifici di patologia neuromuscolare (Vasta et al., 2005) . La loro presenza in un neonato innesca una complessa procedura diagnostica che attraverso l'impiego di indagini collaterali, quali la valutazione dei marker muscolari sierici, gli studi di elettrofisiologia, la diagnostica per immagini e la valutazione di prelievi bioptici muscolari consente il corretto inquadramento nosologico della patologia sottostante al quadro clinico descritto.

Anche nel cavallo, proprio per l'eterogeneità dei fattori eziologici chiamati in causa, la varietà che caratterizza le diverse presentazioni cliniche e la risposta incostante ai diversi protocolli terapeutici applicati, alcuni ricercatori hanno ipotizzato che le deformità flessorie non siano una entità patologica unica, ma che possano essere considerate un sintomo comune a patologie differenti (Wagner e Waltrous 1990). Per tale motivo, come in medicina umana, anche nel puledro deformità flessorie e debolezza

andrebbero considerate una possibile manifestazione di patologie neuromuscolari. In presenza di tali sintomi, contemporaneamente all'applicazione di protocolli di terapia intensiva, indispensabili quando la gravità della sintomatologia rende i puledri inabili a nutrirsi autonomamente, sarebbe opportuno mettere in atto protocolli diagnostici approfonditi che consentano di determinare la patologia sottostante. Andrebbero quindi elaborati degli algoritmi diagnostici che includano metodiche ancillari in grado di determinare e/o escludere la natura neurogena o miogena del danno primitivo. In particolare dovrebbero fare immediatamente seguito ad un esame clinico approfondito, la valutazione dei markers muscolari serici, lo studio istopatologico di campioni bioptici muscolari e quello dell'attività elettrica muscolare e nervosa.

## ***I CAPITOLO***

### ***EZIOPATOGENESI***

Il termine deformità flessorie (FD) descrive la deviazione di un arto sul piano sagittale in senso dorso-volare e si esprime come una iperflessione di una o più articolazioni in uno o più arti (Auer 2006). Questa condizione patologica di iperflessione è stata negli anni indicata da vari autori come “contrattura tendinea”, anche se nella maggior parte dei casi il tendine non è di fatto contratto (Greet 2000, Auer 2006). Le FD nella specie equina non sono una evenienza rara e possono essere classificate in congenite o acquisite. Le prime sono quelle presenti alla nascita, le seconde si sviluppano durante il periodo di accrescimento. Le articolazioni che possono essere colpite da tali patologie sono quelle dello scheletro assile e quelle dello scheletro appendicolare. Nello stesso soggetto possono essere colpite più articolazioni contemporaneamente. Le localizzazioni più frequenti sono l’articolazione del carpo, la metacarpo/tarso-falangea, l’interfalangea distale. Più raramente la deformità può interessare il tarso, l’interfalangea prossimale e il gomito (Finocchio 1973; Embertson 1994; Auer 2006). Per quanto concerne l’interessamento delle interfalangee, l’incidenza nell’arto

posteriore e anteriore è simile (Embertson 1994). Se sono colpite le articolazioni intervertebrali, il quadro clinico si complica, e si notano atteggiamenti di scoliosi, lordosi o cifosi (Rooney 1966; Finocchio 1973). Clinicamente il quadro nosologico può essere diverso in relazione al grado di flessione dell'articolazione ed è importante per inquadrarne la gravità, la possibilità o meno di estendere manualmente l'articolazione colpita. Questi due parametri, flessione dell'articolazione e possibilità o meno di estendere l'articolazione, sono utili e sono i fondamenti su cui si basa la scelta della terapia (Wagner e Waltrous 1990; Embertson 1994; Orsini e Kreuder 1994; Auer 2006). Se le FD si associano a scoliosi o ad altre deformità dello scheletro assile, come il torticollis, e altre malformazioni come: asimmetria o deviazione laterale del cranio, assottigliamento dello strato muscolare della parete addominale allora si parla di “sindrome del puledro contratto” (Rooney 1966; Finocchio 1973; Lear e Bailey 2008). Questa sindrome come anche le FD possono rendersi responsabili di distocia ed essere causa di gravi perdite economiche per l'allevatore (Vandeplasse 1987; Byron et al., 2002; Lear e Bailey 2008). In associazione alle FD si riscontra frequentemente la rottura dei tendini estensori del dito, che si ritiene sia dovuta allo

stress meccanico indotto dalla iperflessione. Le deformità flessorie possono essere associate a deformità angolari o rotazionali degli arti (McLaughlin e Doige 1981; McLaughlin et al., 1981; Auer 2006). Il termine artrogriposi è stato utilizzato per identificare la presenza di FD multiple. L'artrogriposi è una deformità caratterizzata da curvatura degli arti, rigidità articolare multipla e displasia muscolare. Ci sono alcuni autori che sostengono che in questa categoria rientrano solo i casi in cui specifiche disfunzioni miogene o neurogene inducono modificazioni ossee e articolari, che persistono anche in seguito a recisione dei muscoli. Le articolazioni in questo modo andrebbero incontro ad una vera e propria anchilosi e la deformità non risulta in alcun modo riducibile (McIlwraith 1987). Proprio per le diverse presentazioni cliniche e per la risposta incostante ai diversi protocolli terapeutici sviluppati, si ritiene che le FD non debbano essere considerate un'unica entità patologica, ma piuttosto un sintomo comune a patologie differenti (Wagner e Waltrous 1990). Negli anni numerose sono state le cause considerate responsabili di deformità flessoria; tra queste, la più frequentemente invocata è il malposizionamento intrauterino. Si è ipotizzato che il sovraffollamento della cavità addominale dovuto all'aumento di volume dell'utero, insieme al già grande apparato



digerente degli equini, possa impedire al puledro, soprattutto nelle ultime fasi della gravidanza, movimenti di flessione-estensione delle articolazioni. Questo esiterebbe quindi in rigidità articolare nel post-partum (Boyd 1976; McIlwraith 1986; Embertson 1994; Auer 2006). Questo però secondo Rooney et al 1966 sarebbe vero solo in quelle FD para-fisiologiche che si risolvono senza terapia in pochi giorni. Tra le eziologie confermate sperimentalmente troviamo l'ingestione di piante. Alcune leguminose selvatiche, dei generi *Astragalus* e *Oxytropis*, quando ingerite da cavalli adulti possono indurre la sindrome del "locoismo". Questa è caratterizzata da segni neurologici che vanno dalla depressione grave alla ipereccitabilità. Su 26 cavalle gravide che avevano ingerito *Astragalus Mollisimus*, 5 abortirono e 10 partorirono puledri con varie deformità a carico degli arti, 6 dei quali affetti da deformità flessoria. Anche nel bovino e negli ovini l'ingestione di queste leguminose ha prodotto aborti o redi con deformità scheletrica appendicolare (McIlwraith e James 1982; McIlwraith 1987). Anche il sorgo e suoi ibridi provocano reazioni tossiche nei cavalli, che si manifestano clinicamente con: atassia del treno posteriore, cistite, incontinenza urinaria, mielomalacia di vari tratti del midollo spinale. Inoltre l'ingestione di tale pianta è stata associata a quattro casi di

artrogriposi. Si è ipotizzato che questa pianta contenga una tossina neurotropica che induce mielomalacia, che nel feto si tradurrebbe in paralisi e conseguente anchilosi delle articolazioni coinvolte (Prichard e Voss 1967). Anche alti livelli di nitriti e nitrati o la presenza di acetato di piombo negli alimenti per equini possono essere correlati a deformità flessoria. Altra eziologia associata a deformità flessoria nei cavalli è quella virale. In un'azienda un'epidemia di virus influenzale che ha coinvolto fattrici gravide, 3 puledri su 10 sono nati affetti da deformità flessoria. L'infezione sperimentale di embrioni di pollo con *Coxsakiavirus A-2* determina sviluppo di pulcini affetti da grave miosite, deplezione dei neuroni delle corna ventrali del midollo spinale e artrogriposi. Nel bovino, l'infezione in utero contratta sia naturalmente che sperimentalmente con il virus di *akabane* provoca artrogriposi (McIlwraith 1987). Questa sindrome era presente in puledri le cui madri avevano avuto una gestazione prolungata, e nonostante questo, i soggetti presentavano segni di immaturità come: pelo rado e soffice, orecchie flaccide, incompleta chiusura della parete addominale e ritardata ossificazione. Per tali motivi la sindrome è stata indicata anche come Ipotiroidismo Congenito e Dismaturità (McLaughlin e Doige 1981; McLaughlin et al., 1986; Allen et al., 1996). Gli

ormoni tiroidei giocano un ruolo fondamentale nello sviluppo e nella maturazione scheletrica. La tiroxina, sinergica con le somatomedine, prodotti dal fegato in risposta alla stimolazione operata dall'ormone della crescita, sono responsabili della crescita scheletrica. Infatti tiroidectomie effettuate su feti ovini hanno portato in questi un ritardo di ossificazione, riduzione dell'accrescimento longitudinale e impossibilità nel riassorbimento dell'osso primario.

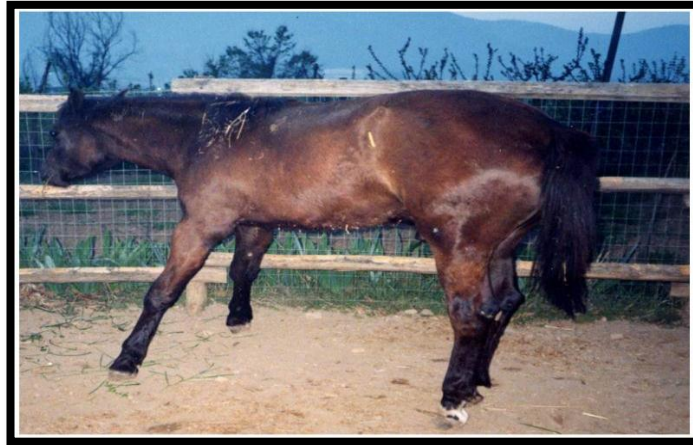


**Figura 1: Prognatismo mandibolare**

Tiroidectomie effettuate su neonati equini hanno indotto ritardata ossificazione, anche se di grado inferiore rispetto a quanto osservato in puledri affetti da ipotiroidismo congenito (Fig 1) (McLaughlin e Doige 1981; McLaughlin et al., 1986). Nell'uomo l'ipotiroidismo

provoca sintomi o patologie neuromuscolari come la sindrome del tunnel carpale, polineuropatie e miopatie. La miopatia si manifesta clinicamente con debolezza, mialgia e crampi ed è associata ad un aumento dell'attività sierica degli enzimi muscolari, in particolare del CK (Scott et al., 2002). Si possono osservare, inoltre, mioedema, ipertrofia muscolare e ritardata fase di rilassamento dei riflessi tendinei. Gli esami istopatologici di campioni biotici muscolari da pazienti affetti da ipotiroidismo evidenzia variabilità di dimensione delle fibre, atrofia delle fibre di tipo II ed ipertrofia di quelle di tipo I, fibre in degenerazione e aumento di fibre con nuclei centrali e strutture core-like, aumento dei mitocondri e accumulo intracellulare di glicogeno e lipidi (Scott et al., 2002). Anche miopatie congenite e disfunzioni neuromuscolari possono causare FD congenite. Mayhew nel 1984 descrisse un caso di artrogriposi associato a un disordine neuromuscolare, in una puledra Purosangue Inglese che presentava marcata deformità flessoria con fissazione del garretto e dell'articolazione femoro-tibio-rotulea. L'esame istopatologico dei muscoli e dei nervi dell'arto colpito permise di emettere diagnosi di artrogriposi multipla congenita di origine neurogena, caratterizzata da deplezione dei corpi cellulari dei motoneuroni inferiori che

avrebbero dovuto servire l'arto affetto e da aspetti di miopatia da denervazione nei campioni biotici muscolari (Mayhew 1984). In un pony affetto da deformità flessoria multipla di tutti e quattro gli arti, associata a ipotonia della muscolatura prossimale degli arti e aumento degli enzimi muscolari sierici, l'esame istopatologico di campioni del gluteo medio ha evidenziato aree prive di attività ossidativa e lesioni Core Like. (Fig 2)



**Figura 2: pony affetto da DF multipla**

Sulla base dei reperti dell'esame clinico e delle indagini collaterali è stata emessa diagnosi di Miopatia con Central Cores (Paciello et al., 2006). In campo umano la Central Core Disease è una miopatia non progressiva o lentamente progressiva. Clinicamente si manifesta con ipotonia della muscolatura assiale e prossimale degli arti, lussazione congenita d'anca, scoliosi e talipes equinovarus. Gli

esami istologici ed istoenzimatici di campioni biotici muscolari da soggetti affetti evidenzia aree prive di attività enzimatica ossidativa, corrispondenti ad assenza o deficit di mitocondri (Sewry et al., 2002). La patologia si trasmette come tratto autosomico dominante e si ritiene che almeno uno dei geni responsabili sia il gene del recettore ryanodine (RYR1) del cromosoma 19q13.1. E' stato proposto che la trasmissione possa essere anche legata ad un tratto recessivo (Manzur et al., 1998). In medicina veterinaria quadri clinici ed istopatologici simili sono stati descritti nel bovino, nella pecora e nel cane (McGavin et al., 1969; Newsholme et al., 1987; Gaskell 1987; Goedegebuure et al., 1983).

## ***CAPITOLO II: DIAGNOSI***

### ***ESAME CLINICO***

Per effettuare una diagnosi di deformità flessoria negli equini bisogna eseguire un esame ispettivo e palpatorio a livello dell'articolazione coinvolta (Adams e Lescun 2011). Di solito le FD congenite si possono diagnosticare durante le prime ore di vita o possono essere causa di distocia durante il parto. E' importante eseguire movimenti di flesso-estensione delle articolazioni coinvolte sia con l'arto in carico che a riposo, in modo da determinare il grado di estensione manuale dell'articolazione (Wagner et al., 1982; Adams e Lescun 2011). Questo sistema è un ottimo indicatore ai fini prognostici, è importante valutare la possibilità di ridurre l'articolazione coinvolta in posizione normale anche ai fini della scelta dell'opzione terapeutica (Auer 2006). L'esame radiografico è solitamente eseguito in caso di FD congenite gravi, per evidenziare eventuali anomalie scheletriche e valutare la presenza di alterazioni delle superfici articolari (Wagner et al., 1985; McIlwraith 1987; Auer 2006). Nelle forme congenite è importante valutare tempestivamente il puledro, in quanto l'impossibilità o il ritardo nel raggiungere la stazione quadrupedale, può creare allo stesso deficit del sistema immunitario per mancata

assunzione del colostro nelle prime ore di vita (Adam e Lescun 2011). I soggetti che presentano FD vanno valutati attentamente e devono essere esaminati di frequente in quanto è possibile che sviluppino complicanze settiche, enterite, onfaloflebite e poliartrite. (Wagner et al., 1982; Adam e Lescun 2011). Quando la deformità flessoria è localizzata alla interfalangea distale (rampinismo) deve essere misurato l'angolo formato dalla muraglia dello zoccolo con il suolo, che fisiologicamente deve misurare circa 45°. In presenza di deformità flessoria può misurare tra i 45° ed i 90° nelle forme lievi o di I grado, tra 90° e 115° nelle forme di II grado e superiore a 115° nelle forme gravi (Adams e Lescun 2011).

Anche in caso di deformità del nodello (arrembatura) viene utilizzata una simile classificazione. L'angolo fisiologico di questa articolazione è 135°, nei soggetti con lieve deformità l'angolo si avvicina a 180° e il margine dorsale dell'articolazione si proietta caudalmente al centro dello zoccolo, in modo da trasferire il carico sui tendini estensori (Wagner et al 1985; Adams e Lescun 2011). Nelle forme moderate l'angolo supera i 180° in stazione e quando il soggetto è fatto deambulare l'articolazione si può spostare volarmente verso una posizione quasi fisiologica (Adams e Lescun 2011). In soggetti con deformità flessoria grave, l'articolazione è



permanentemente flessa, l'angolo può misurare 225° ed è solo la punta del piede che prende contatto con il suolo.

## ***WORK-UP CLINICO PER PATOLOGIE***

### ***NEUROMUSCOLARI***

Nel caso di sospetto di malattia neuromuscolare, è necessario mettere in atto una procedura diagnostica completa, accurata e standardizzata per pervenire ad una corretta diagnosi. E' importante escludere qualsiasi malattia che possa mimare una malattia muscolare o una malattia a carico dei nervi periferici (Platt SR 2004). Segnalamento ed anamnesi possono rivestire particolare significato diagnostico. Alcune patologie neuromuscolari sono infatti descritte in specie, razze e sesso specifici e molte di queste patologie congenite o ereditarie si manifestano subito dopo la nascita o nei primi mesi di vita dell'animale. E' importante investigare anche sulla dieta del soggetto per escludere eventuali deficienze vitaminiche o di altri elementi. In corso di esame obiettivo generale, risulta inoltre utile valutare la capacità di prensione, masticazione e deglutizione di acqua e cibo. Anche le vocalizzazioni possono essere alterate nelle patologie

neuromuscolari, per danni a livello della muscolatura o dell'innervazione faringea e/o laringea. Un esame clinico e neurologico completo deve seguire la raccolta delle informazioni anamnestiche, con particolare attenzione al trofismo muscolare per evidenziare atrofia o ipertrofia, alterazioni dell'andatura, della propriocezione e della sensibilità. Esami ematologici e biochimici di routine così come l'esame delle urine devono completare la visita clinica. Il dosaggio della creatinfosfochinasi (CK), della latticodeidrogenasi (LDH), della aspartatoaminotrasferasi (AST) nel siero possono essere indicativi di patologia muscolare e i valori più elevati si riscontrano in corso di distrofie muscolari o mionecrosi. Gli esami più specifici per indagare il sistema neuromuscolare sono gli studi di elettrodiagnostica. Questi comprendono l'elettromiografia (EMG), la valutazione della velocità di conduzione nervosa motoria e sensitiva, la valutazione della funzionalità della placca neuromuscolare tramite il test di stimolazione ripetitiva sopramassimale e la valutazione della funzionalità delle radici nervose dorsali e ventrali attraverso i potenziali evocati somato sensitivi delle corna dorsali e le onde F (Glass et al., 2002). L'elettromiografia valuta la stabilità delle membrane delle fibre muscolari e negli animali si basa sulla

registrazione dei potenziali di inserzione e dei potenziali spontanei delle fibre muscolari (Glass et al., 2002). I risultati degli esami elettrodiagnostici permettono già una prima interpretazione dei segni clinici ed una diagnosi differenziale tra patologie assonali, patologie della mielina e patologie muscolari e una valutazione della loro distribuzione e gravità (Platt 2004). L'elettromiografia è inoltre uno strumento utilissimo per valutare il sito da sottoporre a biopsia muscolare (Platt 2004).

### ***BIOPSIA MUSCOLARE***

La scelta del muscolo quale sede di biopsia è di fondamentale importanza per arrivare ad una diagnosi. Lo scopo di tale procedura diagnostica è quello di prelevare un muscolo colpito dal processo patologico in atto, ma che non mostri marcata atrofia o sostituzione con tessuto connettivo fibroso, essendo questo già uno stadio terminale della malattia (Braund 1994; Dickinson et al., 2002). In quest'ultimo caso istologicamente sarebbero visibili solo alterazioni scarsamente significative ai fini diagnostici, quali grave atrofia miofibrile e fibrosi. In caso di sintomatologia generalizzata, l'elettromiografia rappresenta un ottimo strumento per selezionare i

muscoli da sottoporre a prelievo. Occorre evitare di effettuare la biopsia nei punti di infissione degli aghi dell'elettromiografo (Braund 1994). Generalmente si preferisce prelevare muscoli per i quali in letteratura siano disponibili i normali riferimenti morfometrici, quali la composizione miofibrile e il diametro medio delle fibre e tra questi i siti migliori sono, per gli arti pelvici, il muscolo bicipite femorale, il vasto laterale, il capo laterale del gastrocnemio e il tibiale craniale, mentre, per gli arti toracici, sono il capo lungo e il capo mediale del muscolo tricipite brachiale e il muscolo flessore superficiale delle dita (Braund 1994). La metodica chirurgica di prelievo bioptico con incisione di cute, sottocute e fascia muscolare è preferibile al prelievo con punch transcutaneo, perché permette di ottenere un campione di dimensioni e orientamento adeguati (Braund 1994; Dickinson et al., 2002). Deve essere infatti prelevato un campione cilindrico lungo circa 1,5 cm, largo e spesso 1 cm, in cui le fibre siano orientate longitudinalmente secondo la lunghezza del cilindro (Dickinson et al., 2002). L'orientamento delle miofibre nel campione è fondamentale in quanto permette un corretto posizionamento nella fase di congelamento per ottenere sezioni trasversali delle fibre, ottimali per la valutazione istomorfologica. La biopsia dovrebbe essere

effettuata a livello del ventre muscolare, evitando le zone di inserzione tendinea e le aponeurosi dove le caratteristiche istologiche possono essere non rappresentative del tessuto muscolare da esaminare (Dickinson et al., 2002). Il cilindro di muscolo ottenuto deve essere avvolto in una garza inumidita con soluzione fisiologica e posto in una provetta di vetro con tappo in gomma per evitare la disidratazione (Dickinson et al., 2002). I campioni non devono essere immersi in soluzione fisiologica, né devono essere congelati. Il campione accompagnato da un siberino refrigerante deve essere inviato al laboratorio, dove deve pervenire entro le 24-36 ore dal prelievo. Un secondo campione muscolare può essere inviato fissato in formalina. All'arrivo in laboratorio il campione fresco viene congelato per immersione in isopentano preraffreddato in azoto liquido e conservato a  $-80^{\circ}\text{C}$ . Tramite criostato vengono eseguite sezioni seriate, colorate quindi con metodi istologici e istochimici di routine quali ematossilina-eosina e tricromica di Engel. Queste due colorazioni sono utili per la valutazione della forma e delle dimensioni delle miofibre e per la valutazione del tessuto connettivo endomisiale e perimisiale e per l'evidenziazione di cellule infiammatorie (Dickinson et al., 2002). Altre colorazioni utili possono essere la PAS, che consente di

evidenziare i polisaccaridi intramiofibrili e l' Oil Red O che serve ad evidenziare i lipidi intramiofibrili. Metodi istoenzimatici specifici utilizzati per valutare il tessuto muscolare sono: l'ATPasi, usata per la tipizzazione miofibrile e l'Esterasi, per valutare le esterasi non specifiche presenti nei lisosomi e nelle placche neuromuscolari. Ancora, metodiche utilizzate per la valutazione del pattern enzimatico ossidativo miofibrile sono: la succinicodeidrogenasi (SDH), che è un enzima puramente mitocondriale codificato dal DNA mitocondriale e nucleare; la nicotinamide adenindinucleotide-tetrazolioriduttasi (NADH-TR), che consente di valutare l'architettura interna della fibra muscolare ed è presente a livello mitocondriale e del reticolo sarcoplasmatico; la citocromossidasi (COX), anche questo un enzima puramente mitocondriale, prodotto esclusivamente dal DNA mitocondriale e per questo motivo utilizzabile per la diagnosi delle miopatie mitocondriali che si caratterizzano per il danno al mDNA (Braund 1994; Loughlin Taylor 2004). L'esigenza di poter disporre di campioni freschi congelati è legata proprio alla necessità di eseguire specifiche colorazioni istoenzimatiche per la tipizzazione miofibrile e la localizzazione degli enzimi ossidativi, che non potrebbero essere eseguite su campioni fissati in formalina. Parte

del campione può essere fissato in glutaraldeide al 2,5%, quindi in tetrossido di osmio ed infine incluso in resina di Spurr, per allestire sezioni ultrasottili per microscopia elettronica. Le indagini ultrastrutturali consentono di valutare la morfologia mitocondriale o miofibrillare, confermando quindi le valutazioni ottenute dalla valutazione istochimica ed istoenzimatica. Indagini di immunostochimica possono consentire la rivelazione di antigeni di *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, *Leishmania infantum* nel cane (Paciello et al., 2006) o per la tipizzazione degli infiltrati infiammatori. L'immunostochimica è un'indagine sensibile anche per la caratterizzazione delle distrofie tramite la valutazione della presenza di proteine quali la distrofina, i sarcoglicani, o altre proteine la cui mancanza è responsabile di miopatie di tipo distrofico ben descritte nell'uomo, e ancora scarsamente tipizzate negli animali domestici (Shelton 2004). I risultati che si ottengono da queste indagini immunostochimiche possono guidare eventuali indagini genetiche per il riconoscimento di specifiche mutazioni (Shelton 2004).

## ***CAPITOLO III***

### ***TERAPIA***

La scelta del protocollo terapeutico da adottare in caso di deformità flessoria è influenzata da vari fattori e, in primo luogo, dalla gravità della presentazione clinica e soprattutto dall'articolazione colpita (Wagner et al., 1982; Auer 2006; Adams e Lescun 2011). In soggetti affetti da FD congenite è possibile utilizzare terapie conservative singole o in associazione. Questo è possibile perché i tessuti dei soggetti neonati sono molto plastici. Inoltre, la presenza nei primi periodi dopo la nascita di miofibroblasti, nei tendini del muscolo flessore profondo delle falangi e della briglia carpica, giustifica la risposta di queste strutture a specifici trattamenti che non avrebbero effetto dopo questo periodo (Hartzel et al., 2001).

In ogni caso la scelta del protocollo terapeutico è correlata alla gravità della deviazione: nessun trattamento o terapie brevi nei casi lievi; terapie più aggressive come associazione di più trattamenti nei casi moderati. Nei casi gravi si ricorre alla chirurgia, la quale è comunque subordinata a fattori come le condizioni generali del puledro o la presenza di gravi modificazioni osteo-articolari, motivo di prognosi infausta per il recupero all'attività agonistica e a volte



anche alla sopravvivenza dello stesso (Auer 2006; Adams e Lescun 2011).

Di solito le deformità di grado lieve indicate come parafisiologiche secondo Rooney sono autolimitanti e scompaiono in pochi giorni grazie al solo utilizzo dell'arto (Rooney 1966; Boyd 1976). Le forme da lievi a moderate vengono, invece, corrette con un management non chirurgico. Quelle che non rispondono a tali trattamenti beneficerebbero del trattamento chirurgico, ma il risultato su FD gravi può rivelarsi deludente (Wagner et al 1982; Embertson 1994; Auer 2006; Adams e Lescun 2011).

L'eutanasia va considerata come opzione quando puledri con FD gravi non rispondono a terapie aggressive o quando il proprietario non è disponibile ad affrontare l'impegno economico (Embertson 1994; Auer 2006).

Il trattamento andrebbe iniziato il prima possibile e la gravità del caso clinico determina quanto rapidamente e aggressivamente debba procedere la terapia. I puledri che abbiano, a causa delle FD, un ritardo nel raggiungimento della stazione quadrupedale e, quindi, nell'assunzione del colostro, andrebbero tenuti sotto stretta osservazione (Adams e Lescun 2011). La terapia intensiva, costituita da antibiotici ad ampio spettro, somministrazione di

colostro e di plasma iperimmune, ossigeno per via endonasale, fluidoterapia di sostegno con integrazione di elettroliti in base alla valutazione dell'emogasanalisi e il monitoraggio dei parametri ematochimici è spesso necessaria. Inoltre i casi da moderati a gravi andrebbero ospedalizzati per poter seguire costantemente la risposta alla terapia, e adeguare la stessa all'evoluzione clinica (Embertson 1994; Adams e Lescun 2011).

La terapia medica è essenzialmente limitata all'utilizzo dell'ossitettraciclina, per i suoi effetti miorilassanti, e dei farmaci antinfiammatori non steroidei, per i loro effetti analgesici. Farmaci gastroprotettori come gli antagonisti dei recettori H2 per l'istamina (ranitidina), cimetidina, inibitori della pompa protonica (omeprazolo) o il sucralfato andrebbero sempre somministrati ai puledri, sia perché in terapia con i FANS, sia perché sottoposti a situazioni particolarmente stressanti, soprattutto quando vengono ricoverati (Embertson 1994; Magdesian 2003; Adams e Lescun 2011). Per quanto riguarda l'ossitettraciclina, si pensa che il suo effetto sia legato alla sua capacità di legare gli ioni calcio e di prevenirne, quindi, il flusso all'interno delle fibre muscolari producendo, così, il miorilassamento ed il conseguente allungamento dell'unità muscolo-tendinea (Embertson 1994).

Questo farmaco agirebbe sui miofibroblasti delle briglie e dei tendini flessori nei primi giorni di vita del puledro, determinando il rilassamento di queste strutture (Hartzel et al., 2001). L'ossitetraciclina è somministrata una volta al giorno alla dose totale di 3 grammi, indipendentemente dal peso del puledro, diluita in 500 ml - 1 litro di soluzione fisiologica per via endovenosa. La somministrazione può essere ripetuta fino a 3 o 4 giorni consecutivi, a seconda dell'effetto ottenuto (Lokai e Meyer 1985; Embertson 1994). La diluizione è necessaria per le possibili complicanze della somministrazione rapida per via endovenosa, che può infatti provocare l'improvviso decubito del soggetto (Embertson 1994; Adams e Lescun 2011). Nel ratto è stato dimostrato un effetto bradicardizzante e depressivo a livello respiratorio, che è direttamente proporzionale alla dose e alla rapidità di infusione del farmaco (Gyrd-Hansen 1980). I risultati ottenuti con l'utilizzo dell'ossitetraciclina sono notevoli, in ogni caso i migliori effetti si ottengono nei primi giorni di vita. Gli effetti di questo farmaco sarebbero transitori, circa 4 giorni in soggetti normali (Adams e Lescun 2011). Questo periodo sarebbe sufficiente a ristabilire la normale conformazione dell'articolazione affetta e alla sua definitiva correzione (Embertson 1994; Adams e

Lescun 2011), laddove il persistere della causa di contrattura non determini la recidiva della sintomatologia al cessare dell'effetto miorilassante del farmaco. Gli effetti collaterali sono rari e consistono nella colorazione vitale di ossa e denti e in una potenziale nefrotossicità; è opportuno per questo valutare la concentrazione sierica della creatinina prima e dopo la somministrazione, per monitorare la funzionalità renale (Embertson 1994; Adams e Lescun 2011). Il rischio di nefrotossicità potrebbe essere più significativo nel neonato in condizioni critiche (Adams e Lescun 2011). E' importante inoltre porre attenzione alle altre articolazioni, poiché l'effetto miorilassante è generalizzato e può verificarsi iperestensione di altre articolazioni (Embertson 1994; Adams e Lescun 2011).

Per quanto riguarda il pareggio, le ferrature correttive e le tecniche chirurgiche più appropriate, queste saranno discusse in relazione alle specifiche deformità. Va ricordato, in linea di principio, che nel neonato pareggio e ferrature correttive vanno utilizzate con cautela perché la resistenza della lamina potrebbe essere superata dalle forze esterne che con queste tecniche vengono applicate sullo zoccolo (Embertson 1994; Auer 2006). L'applicazione di estensioni anteriori dello zoccolo utilizzando resine acriliche, da sole o in

combinazione con leggere piastre da piede, protegge la punta dello zoccolo da eccessivo ed indesiderato consumo e induce lo stiramento dei flessori durante la seconda fase dell'appoggio e la prima della levata. Per assicurarsi che tali dispositivi durino il più a lungo possibile, vengono praticati fori di circa 2 mm di diametro e di profondità nella parete dorsale dello zoccolo, in prossimità della punta. Durante l'applicazione della resina acrilica, questa viene spalmata anche sulla parete dorsale in modo da farla penetrare nei fori e fornire maggiore stabilità al sistema, prolungandone la vita. Il riempimento dello spazio tra l'estensione e la parete dorsale riduce inoltre il rischio che il puledro incespichi nell'estensione stessa. La durata di questo sistema è di circa due settimane (Auer 2006). L'estensione della punta dello zoccolo appena descritta è utile sia nel trattamento del rampinismo di I e II grado che nei casi lievi di arrembatura (Auer 2006).

## **Rampinismo**

Le FD congenite che coinvolgono l'articolazione interfalangea distale non sono tanto comuni quanto le corrispondenti forme acquisite, né quanto quelle congenite che colpiscono il nodello o il carpo. Gli arti anteriori sono più spesso colpiti rispetto ai posteriori

e la condizione può essere sia monolaterale che bilaterale (Finocchio 1973; Wagner et al., 1982; Embertson 1994) (Fig 3).



**Figura 3: rampinismo**

Il trattamento delle forme lievi richiede, nella maggior parte dei casi, un'unica somministrazione di ossitetraciclina e/o un bendaggio dell'intero arto; terapie più aggressive sono indicate quando si rileva una ridotta risposta alla terapia e si osserva solo un miglioramento minimo, o nei casi di FD moderata (Embertson 1994). Possono rivelarsi benefiche ulteriori dosi di ossitetraciclina e l'utilizzo di FANS, come anche l'utilizzo di bendaggi gessati o gessi. L'esercizio viene inizialmente ristretto, quindi aumentato gradualmente man mano che l'angolo tra zoccolo e suolo migliora. Misure correttive che coinvolgano direttamente il piede vanno usate con cautela; infatti, a quest'età, eccessive estensioni della punta con

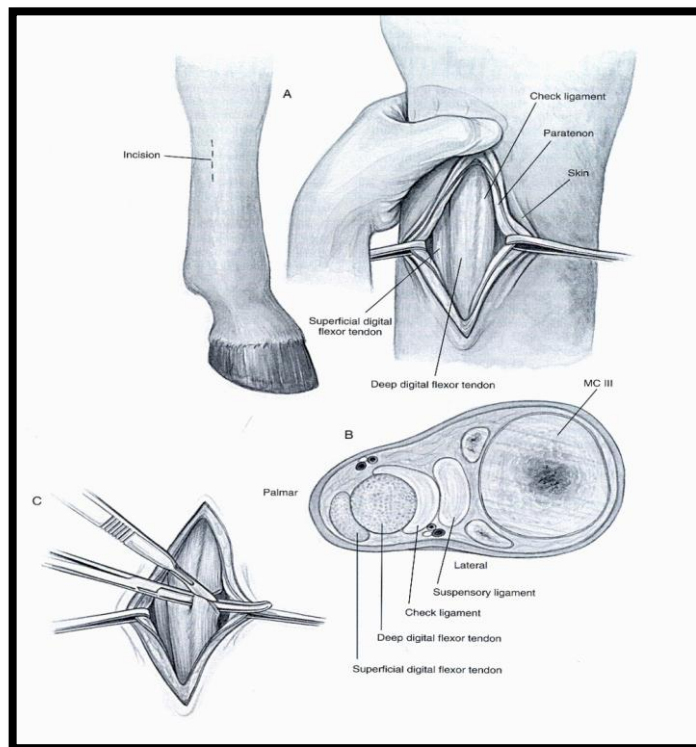
scarpette, materiali acrilici o altri supporti, possono determinare un'eccessiva tensione sulle lamine del piede, danneggiando le stesse e il cerchione coronario (Embertson 1994; Auer 2006). Gli stessi mezzi possono invece risultare utili come mezzi protettivi dall'eccessivo logoramento della punta, via via che l'angolo tra parete e suolo migliora (Embertson 1994; Auer 2006).

La chirurgia, in corso di rampinismo congenito, è raramente necessaria, dato che la condizione risponde in maniera adeguata alla terapia conservativa. Nelle forme croniche ed in quelle acquisite si può ricorrere invece alla terapia chirurgica rappresentata dalla desmotomia della briglia carpica nel rampinismo di I grado e dalla tenotomia del tendine del muscolo flessore profondo delle falangi nei casi più gravi o in quelli che non abbiano risposto alla desmotomia della briglia (Auer 2006).

### ***Desmotomia della briglia carpica***

La briglia carpica, o legamento accessorio del tendine del muscolo flessore profondo delle falangi o capo tendineo di Schmaltz, origina dalla porzione volare della seconda fila di ossa carpiche e dalla porzione prossimale del metacarpo principale per inserirsi a pieno calibro sul tendine del muscolo flessore profondo delle falangi a

livello del terzo medio del metacarpeo principale (Bruni e Zimmerl 1947). Con il soggetto in narcosi in decubito laterale, si può avvicinare la briglia carpica sia con accesso laterale che mediale; in corso di FD bilaterale questo permette di intervenire su entrambi gli arti senza la necessità di ruotare il puledro. (Fig 4).



**Figura 4: desmotomia briglia carpica (distal check ligament) da Modificato da Atlas of Equine Surgery.**

Ad ogni modo, poiché spesso in seguito a tale intervento si può avere una reazione proliferativa dei tessuti molli, si preferisce eseguire la procedura eseguendo un approccio laterale; infatti, una tumefazione sulla faccia mediale dello stinco può essere confusa con esostosi del metacarpeo accessorio mediale ed essere quindi



considerata un difetto. Inoltre, la briglia carpica viene meglio visualizzata eseguendo l'accesso laterale (Fackelman *et al.*, 1983; Auer 2006). Un'incisione cutanea di circa 5 cm viene eseguita tra il terzo prossimale ed il terzo medio del metacarpo principale al di sopra del tendine del muscolo flessore profondo delle falangi; il tessuto sottocutaneo viene dissezionato per via smussa e le strutture tendinee identificate. Nel caso dell'accesso mediale, il fascio vascolonervoso che si trova al di sopra del tendine del muscolo flessore delle falangi viene identificato e allontanato dalle strutture profonde. La palpazione attraverso il paratenonio permette di identificare e separare il tendine del muscolo flessore delle falangi e la briglia carpica. Una pinza emostatica curva viene introdotta al di sotto della briglia carpica ed avanzata seguendo il margine del tendine, che è leggermente curvilineo, ed in seguito viene ruotata e divaricata. La briglia carpica viene sollevata fino a livello dell'incisione cutanea; l'estensione del piede mette in tensione la briglia e permette di assicurarsi di aver isolato correttamente la struttura. Una volta identificata, la briglia viene dissezionata con il bisturi (Fig 5)



Figura 5: dissezione intraoperatoria della briglia carpica.

L'estensione dell'articolazione interfalangea distale produce un gap di circa 1 cm tra i capi recisi; tale gap viene ispezionato e palpato, ed ogni lacinia residua eliminata. Il paratenonio, il sottocute e la cute sono chiuse utilizzando materiale di sutura assorbibile 2-0 o 3-0 con un pattern continuo semplice. Si suggerisce l'utilizzo di una sutura intradermica per ottenere un miglior risultato estetico. Dopo l'intervento si applica un bendaggio compressivo per due o tre settimane, cambiando la medicazione ogni tre o quattro giorni (Auer 2006). È stata proposta, inoltre, una tecnica mininvasiva ecoguidata, eseguibile sul cavallo in stazione (Auer 2006).

Ai puledri molto giovani o a quelli sottoposti a chirurgia precocemente rispetto all'insorgenza della FD si consente un esercizio controllato a partire dal 3°-6°giorno dopo la chirurgia; si

incoraggia l'esercizio libero al pascolo dopo 2 settimane. Nei soggetti meno giovani ed in quelli con contratture croniche o gravi, l'esercizio viene limitato per un periodo di alcuni mesi per prevenire l'eccessiva fibroplasia del sito della chirurgia. Antinfiammatori non steroidei a basso dosaggio possono essere somministrati come analgesici (Auer 2006). La fibroplasia postoperatoria che si verifica a livello del sito della chirurgia ricongiunge, col tempo, i capi recisi della briglia carpica; in alcuni casi, tale fibroplasia può essere eccessiva e può residuare una tumefazione (Auer 2006). Risultati scarsi possono anche conseguire a tendiniti indotte dall'esercizio, quando il tendine è stato per lungo tempo sottratto al lavoro dalla briglia contratta; tali tendiniti possono essere evitate con lunghi periodi di esercizio controllato. Il massaggio giornaliero della parte può inoltre ridurre la tumefazione (Auer 2006). Il follow-up a lungo termine su puledri Standardbred trattati con la desmotomia della briglia carpica ha dimostrato che i soggetti giovani, di età inferiore agli otto mesi al momento della chirurgia, possono realizzare il proprio potenziale atletico; nessun puledro trattato dopo gli 8 mesi di età ha avuto un esito favorevole da questo punto di vista (Auer 2006). Un altro studio che valutava l'efficacia del trattamento descritto in 40 cavalli appartenenti a

diverse razze (Quarter Horse, Purosangue Arabo e Purosangue Inglese) ha mostrato come l'applicazione della desmotomia nei soggetti di età inferiore ai 4 mesi dia i migliori risultati (Wagner et al., 1985).

### ***Tenotomia del tendine del muscolo flessore profondo delle falangi***

Il muscolo flessore profondo delle falangi, o muscolo perforante, è un muscolo lungo e potente, carnoso nella sua porzione prossimale, che ha tre capi di origine, i quali si mantengono ben distinti e facili da isolare l'uno dall'altro, anche quando si avvicinano a formare il ventre muscolare; questi tre capi prendono il nome dall'osso dal quale traggono origine (Bruni e Zimmerl 1947). Il *capo omerale* si distacca dall'epicondilo mediale, o flessorio dell'omero, con un breve tendine d'origine, al quale la sinoviale articolare del gomito fornisce una borsa; il suo ventre consta di tre grossi fasci carnosì intimamente uniti e percorsi da lamine tendinee. Prima di raggiungere il carpo, questo ventre passa in un tendine robustissimo. È questa la parte del muscolo flessore profondo delle falangi che corrisponde al muscolo flessore profondo delle dita dell'uomo (Bruni e Zimmerl 1947).

Il *capo ulnare* nasce dal margine posteriore e dalla faccia mediale dell'olecrano, forma un ventre carnoso, che si assottiglia in basso, per passare in un esile tendine. Molto superficiale all'origine, si approfonda in seguito, per raggiungere col suo tendine il margine laterale del capo omerale, al quale si unisce prima di raggiungere il carpo; questo fascio viene considerato da molti autori omologo del muscolo palmare lungo dell'uomo (Bruni e Zimmerl 1947). Il *capo radiale*, più esile di tutti, talora addirittura assente, nasce con una lamina carnosa, ricca di fasci fibrosi, dal terzo medio della faccia volare del radio; diventa ben presto tendineo e si fonde a livello del carpo col tendine del capo omerale. Corrisponde al muscolo lungo flessore del pollice dell'uomo (Bruni e Zimmerl 1947). Il tendine comune, che man mano assume forma cilindrica, percorre la doccia volare del carpo, avvolto dalla grande guaina sinoviale carpica; nel terzo prossimale del metacarpo riceve la briglia carpica, che proviene dal legamento volare del carpo. Verso l'articolazione del nodello entra nel canale formato dal tendine del muscolo flessore superficiale delle falangi e percorre con questo la puleggia sesamoidea, avvolto dalla guaina grande sesamoidea; si appiattisce mentre percorre la faccia volare della prima falange, prende attacco con lacinie alla faccia volare della seconda falange e all'osso

navicolare, si riflette ancora sullo stesso osso navicolare, ove è accompagnato dalla guaina piccola sesamoidea. Finalmente, allargandosi in una membrana, nota col nome di aponeurosi plantare, prende attacco alla cresta semilunare della terza falange (Bruni e Zimmerl 1947).

In corso di rampinismo di II grado, che non risponda alla desmotomia della briglia carpica, la tenotomia del tendine del muscolo flessore profondo delle falangi può essere utilizzata con successo per correggere questo tipo di FD. Inizialmente, tale intervento chirurgico era considerato una procedura di salvataggio; invece, diversi soggetti sono poi riusciti a diventare cavalli da equitazione sani (Auer 2006).

Sono stati proposti due siti per eseguire la tenotomia. L'approccio distale si esegue sulla linea mediana a livello della faccia volare dell'articolazione pastorocoronale e prevede l'ingresso nella guaina tendinea immediatamente al di sotto del punto di biforcazione del tendine del muscolo flessore superficiale delle falangi. A questo punto il tendine del muscolo flessore profondo delle falangi viene identificato, esteriorizzato e reciso con il bisturi. È possibile notare l'immediata retrazione del moncone prossimale entro la guaina. La sintesi dell'accesso viene eseguita *more solito* e non è considerata

necessaria la chiusura della guaina tendinea (Fackelman *et al.*, 1983). Con il soggetto ancora in narcosi, viene eseguito il pareggio dello zoccolo, nel tentativo di conferirgli una forma il più possibile normale. La correzione della FD appare immediata dopo l'intervento chirurgico, al quale però si associa un dolore considerevole; per questo motivo è d'obbligo la somministrazione di FANS. Poiché il rampinismo impiega un tempo considerevole, nelle forme acquisite, per passare dal I al II grado, i tessuti molli della regione, quali la capsula articolare, i legamenti e gli altri tessuti peri articolari della porzione volare delle falangi, risultano significativamente contratti. La tenotomia appena descritta non esita in un marcato innalzamento della punta dello zoccolo durante il carico, cosa che avviene dopo la rottura di questo tendine a livello dell'osso navicolare. Ciononostante, in casi selezionati, è necessario applicare una scarpetta con un'estensione della punta (Fackelman *et al.*, 1983; Auer 2006). Il secondo approccio chirurgico descritto viene eseguito circa a metà del metacarpeo/tarso principale; la procedura può essere eseguita mediante un approccio sia laterale sia mediale. I vantaggi di questo approccio risiedono sia in una maggiore distanza dal piede che nel non dover penetrare una guaina tendinea. In più, la tenotomia eseguita a questo livello risulta di più

semplice esecuzione. Una sequela indesiderabile di questo approccio può essere però la formazione di una cicatrice con grave deturpazione della parte. Il management post-operatorio è del tutto sovrapponibile a quello descritto per il precedente intervento (Auer 2006).

### ***Arrembatura***

Le FD congenite che colpiscono le articolazioni metacarpo- e metatarso- falangee vengono rilevate con frequenza simile sia negli arti anteriori che in quelli posteriori e possono essere bilaterali o monolaterali; quando bilaterali, solitamente un arto risulta più gravemente affetto del controlaterale (Embertson 1994). (Fig 6)



**Figura 6: FD dell'articolazione metcarpo-falangea (arrembatura).**

Nei casi molto lievi non è solitamente necessaria alcuna terapia e la condizione si rivela autolimitante; se ciò non avviene, la terapia



conservativa con ossitetraciclina, FANS e bendaggio dell'arto dà ottimi risultati. In assenza di risposta alla terapia medica, o in caso di FD più gravi, il bendaggio steccato o l'ingessatura sono più indicati. Per quanto riguarda il pareggio correttivo, vale quanto riportato per il rampinismo (Emberson 1994; Auer 2006). Nelle forme moderate o gravi andrebbe sempre eseguita la valutazione radiografica delle articolazioni colpite, sebbene modificazioni osteo-articolari siano piuttosto rare (Auer 2006). Anche in corso di arrembatura la terapia chirurgica è raramente necessaria; nelle forme non rispondenti alla terapia conservativa ed in quelle acquisite, però, andrebbe considerata la chirurgia associata al bendaggio o all'ingessatura dell'arto. Le tecniche chirurgiche utilizzate con successo in corso di arrembatura sono la desmotomia della briglia carpica, quando alla palpazione dell'arto posto in estensione risulti il tendine del muscolo flessore profondo il più teso, la desmotomia della briglia radiale, quando invece alle stesse manovre risulti più teso il tendine del muscolo flessore superficiale, o l'associazione di entrambe le tecniche. Se queste procedure dovessero risultare infruttuose, la resezione del tendine del muscolo flessore superficiale delle falangi o del legamento sospensore del nodello possono permettere di salvare la vita del soggetto. A causa

delle complicanze collegate all'ipercorrezione conseguente alla resezione dei flessori e del legamento sospensore del nodello, è stata descritta la possibilità di associare l'artrodesi dell'articolazione metacarpo-/ metatarso- falangea affetta (Whitehair et al., 1992; Auer 2006; Carpenter et al., 2008). Le FD gravi consecutive a prolungate zoppie con mancato carico dell'arto non rispondono alla desmotomia di entrambe le briglie; questi casi andrebbero trattati o con plastiche tendinee, come le procedure di allungamento, di entrambi i tendini, seguite da applicazione a lungo termine di bendaggi gessati, o con osteotomie in associazione ad artrodesi del nodello (Auer 2006). Un altro intervento terapeutico conservativo è la ferratura correttiva; sollevare i talloni con cunei imbottiti porta ad una variazione dell'angolo del nodello che diviene più acuto, il che risulta in un parziale rilassamento del tendine del muscolo flessore profondo delle falangi. Alcuni autori dubitano dell'efficacia di questo trattamento, ma è stato dimostrato un miglioramento clinico. In caso di diagnosi precoce si è dimostrata efficace anche l'applicazione delle estensioni della punta. Durante la deambulazione, con l'estensione applicata, l'atterraggio del piede viene ritardato e viene esercitato un maggiore stress sui tendini flessori (Auer 2006).

L'applicazione di scarpette con barra verticale associate ad un pezzo di camera d'aria posta a ponte dorsalmente al nodello può essere un mezzo correttivo efficace. La camera d'aria, morbida e piuttosto elastica, previene lo sviluppo di piaghe cutanee. Bisogna prestare attenzione alla possibilità di interferenza tra le barre mediali, quando tali dispositivi vengono applicati su entrambi gli arti anteriori (Auer 2006).

Nei casi diagnosticati precocemente si può tentare anche l'applicazione di bendaggi con steccatura (Auer 2006).

### ***Desmotomia della briglia radiale***

La briglia radiale, o legamento accessorio del tendine del muscolo flessore superficiale delle falangi, è una robusta struttura desmica che origina appena prossimalmente al disco epifisario distale del radio, a livello del margine volare di quest'osso, e si porta distalmente per inserirsi sul tendine del muscolo flessore superficiale delle falangi a livello della sua origine, in corrispondenza del carpo (Bruni e Zimmerl 1947). Lo scopo di questo intervento è di ottenere un'unità muscolo-tendinea funzionalmente più lunga. Sono stati descritti due differenti approcci; per entrambi, i *reperi* anatomici sono gli stessi e sono il

margine mediale dell'epifisi distale del radio, la castagnetta e la vena cefalica (Auer 2006).

Le castagnette sono placche cornee, prive oramai di qualsiasi funzione, che starebbero a rappresentare le vestigia del primo dito degli animali pentadattili progenitori degli attuali equini; nell'arto toracico le stesse sono situate al lato mediale nel terzo distale della regione dell'avambraccio (Bruni e Zimmerl 1947). La vena cefalica è un grosso tronco venoso che corre superficialmente nel solco pettorale laterale, ricoperta soltanto dal muscolo pellicciaio. Essa continua la vena metacarpea superficiale volare mediale che, nella regione dell'avambraccio, prende appunto il nome di vena cefalica dell'avambraccio; si dirige prossimalmente e dorsalmente, incrociando obliquamente la direzione del radio, passa nel braccio come vena cefalica del braccio e sbocca nella vena giugulare poco al di sopra della vena ascellare. Nella parte prossimale dell'avambraccio riceve la vena cefalica accessoria, che origina dalla rete venosa del carpo (Bruni e Zimmerl 1947).

Per entrambe le tecniche, si esegue un'incisione cutanea di circa 10 cm lungo la castagnetta, cranialmente alla vena cefalica; i tessuti sottocutanei vengono dissezionati per via smussa e le branche venose comunicanti con la vena cefalica vengono legate a monte e a

valle, e quindi recise nel mezzo delle due legature (Auer 2006). Dopo l'incisione cutanea, la prima tecnica chirurgica prevede l'approccio alla briglia radiale cranialmente al muscolo flessore radiale del carpo. Questo muscolo, pallido e poco voluminoso, ricco di elementi fibrosi, origina dall'epicondilo laterale dell'omero e aderisce intimamente alla capsula articolare; all'estremità distale dell'avambraccio passa in un tendine, che, avvolto da una guaina sinoviale, attraversa il legamento trasverso del carpo dal lato mediale e si inserisce alla testa del metacarpeo accessorio mediale (Bruni e Zimmerl 1947). Il forame ovale, cioè l'ingresso prossimale al canale del carpo, può essere preso in considerazione come limite distale della desmotomia (Auer 2006). La fascia carpica viene incisa con attenzione ed il muscolo flessore radiale del carpo, privo di guaina, viene identificato. Tale muscolo e la vena cefalica vengono dislocati utilizzando un divaricatore autostatico. A questo punto viene eseguita la desmotomia della briglia radiale, che a questo livello ha forma a ventaglio, ponendo attenzione a non danneggiare il retinacolo volare del carpo. In seguito alla desmotomia è possibile visualizzare il capo radiale del muscolo flessore profondo delle falangi e la guaina carpica. Viene eseguita l'emostasia e la guaina carpica, il sottocute e la cute vengono

suturati (Auer 2006). Un approccio alternativo è attraverso la guaina del tendine del muscolo flessore radiale del carpo; dopo aver dislocato il muscolo in parola all'interno della guaina, si possono visualizzare la sua porzione cranio-laterale e la briglia carpica. Una pinza emostatica curva viene posizionata al di sotto del margine distale e divaricata; la resezione della briglia si esegue quindi in direzione prossimale. Va posta attenzione a non danneggiare l'arteria nutritizia del muscolo flessore superficiale delle falangi, che penetra il muscolo a livello del margine craniale della briglia carpica. Anche con questo approccio, in seguito alla resezione della briglia, è possibile visualizzare le strutture prima ricordate. La sintesi della guaina tendinea si esegue utilizzando un pattern continuo semplice con materiale sintetico riassorbibile 2-0 o 3-0; i restanti tessuti vengono chiusi *more solito* (Auer 2006). Al termine dell'intervento, viene applicato un bendaggio compressivo sterile per due o tre settimane che viene cambiato ogni 3 o 4 giorni (Auer 2006). Un recente studio *in vitro* ha mostrato che la desmotomia della briglia radiale è associata ad un significativo aumento dello stress biomeccanico a livello del tendine del muscolo flessore superficiale delle falangi e del legamento sospensore del nodello e

ad alterazioni degli angoli delle articolazioni del nodello e del carpo (Auer 2006).

***Tenotomia del tendine del muscolo flessore superficiale  
delle falangi***

Il muscolo flessore superficiale delle falangi, o muscolo perforato, è carnoso nella sua parte prossimale e contiene molti sepiamenti fibrosi nel suo ventre, che aderisce intimamente a quello del muscolo flessore profondo delle falangi. Nasce medialmente al capo omerale di quest'ultimo muscolo, dal tubercolo flessorio dell'omero. A livello del carpo passa in un tendine che, appena originatosi, riceve la robusta briglia radiale, originante dalla parte distale del margine mediale del radio, e contrae aderenze col tendine del muscolo flessore profondo delle falangi e con il legamento trasverso del carpo. Percorre il canale del carpo nella stessa guaina carpica che avvolge il flessore profondo; al metacarpo il tendine, alquanto appiattito, si incava a doccia aperta in avanti, per accogliere il tendine del muscolo flessore profondo delle falangi. Verso l'articolazione del nodello questa doccia si fa profonda e si trasforma in un vero e proprio canale lungo 3 – 4 cm, che si apre ancora dorsalmente a livello delle grandi ossa

sesamoidee, ove il tendine si espande notevolmente. A livello del terzo distale della prima falange, il tendine stesso forma un occhiello per lasciar passare il tendine del muscolo flessore profondo delle falangi, da cui il nome di perforato e perforante rispettivamente per i due muscoli sunnominati, e finalmente si divide in due robuste terminazioni, le quali, dopo aver dato ciascuna un fascio alla faccia volare dell'estremità distale della prima falange, si inseriscono alle estremità collaterali del sesamoideo fisso della seconda falange (Bruni e Zimmerl 1947). La tenotomia del tendine del muscolo flessore superficiale delle falangi è indicata in alcuni casi di arrembatura. In precedenza si pensava che tale FD fosse addirittura causata dal solo tendine in parola; è stato poi chiarito che anche il muscolo flessore profondo delle falangi è spesso coinvolto e, nei casi cronici, anche il legamento sospensore del nodello può essere affetto. Nei casi di prevalente coinvolgimento del tendine del flessore superficiale, la sua tenotomia può riportare l'articolazione metacarpo/tarso falangea ad un allineamento fisiologico. L'approccio chirurgico è a livello del terzo medio del metacarpo/tarso principale e si può eseguire sia sul soggetto in stazione, adeguatamente sedato e previa anestesia locoregionale della parte, o in narcosi in decubito laterale. Inoltre,



l'intervento può essere eseguito alla cieca utilizzando un tenotomo fatto penetrare attraverso una piccola incisione cutanea (Turner e McIlwraith 1989). Altrimenti, l'intervento prevede un'incisione cutanea di maggiori dimensioni, che permetta la visualizzazione diretta del tendine. L'incisione, di 2 cm, viene eseguita al di sopra della giunzione tra i tendini dei due muscoli flessori; il paratenonio viene quindi inciso e si procede allo scollamento dei due tendini, reso piuttosto semplice dalla presenza di un evidente piano di clivaggio. Una volta isolato, il tendine viene reciso. La sintesi dei tessuti incisi viene eseguita come di routine (Turner e McIlwraith 1989). Una volta padroni della tecnica, risulterà facile eseguire la procedura alla cieca inserendo un tenotomo, attraverso una piccola incisione cutanea, tra i due tendini e ruotandolo di 90° per effettuare la tenotomia; la cute viene richiusa con un singolo punto (Turner e McIlwraith 1989). Una medicazione sterile viene posta sull'incisione e l'arto operato viene fasciato a partire dalla porzione prossimale del metacarpeo/tarso principale in senso prossimodistale; FANS vengono somministrati per facilitare il ritorno all'attività ed il soggetto viene rimesso a regime di esercizio immediatamente (Turner e McIlwraith 1989).

***Resezione della branca mediale o laterale del legamento  
sospensore del nodello***

Il legamento sospensore del nodello, o legamento sesamoideo prossimale o organo tendineo elastico del Ruini, rappresenta il muscolo interosseo degli animali pentadattili. È un grosso e lungo cordone desmico appiattito in senso dorso volare, compreso, per la maggior parte del suo percorso, fra i due metacarpei accessori. Origina dalla seconda fila delle ossa carpiche e dalla faccia volare del metacarpo principale; in corrispondenza del quarto distale di questo si biforca e i due rami che ne risultano vanno ad inglobare il corrispondente osso sesamoideo prossimale. Ciascuna branca, dopo aver inglobato il proprio sesamoide, si divide in due branche, una delle quali si dirige distalmente e dorsalmente per andare a congiungersi, circa a metà della prima falange, al tendine del muscolo estensore anteriore delle falangi; l'altra branca, che procede distalmente, è destinata a fissarsi sul sesamoideo fisso della seconda falange e provvede a completare distalmente l'apparato di sospensione del nodello insieme ai legamenti sesamoidei distali (Bruni e Zimmerl 1947).

L'incisione cutanea è effettuata direttamente al di sopra della branca del legamento sospensore del nodello, il tessuto sottocutaneo

viene dissezionato per via smussa con una pinza emostatica, e un tenotomo curvo viene inserito al di sotto della branca. Applicando pressione con un moto oscillante, la branca viene resecata. Va posta attenzione nell'evitare di danneggiare inavvertitamente l'arteria e la vena palmare della capsula dell'articolazione del nodello. La stessa procedura viene eseguita sulla branca controlaterale. La cute viene quindi suturata con punti nodosi staccati (Auer 2006).

### *Arcatura*

Le FD congenite del carpo sono solitamente bilaterali. Possono essere presenti quadri di diversa gravità, da forme molto lievi, quasi impercettibili, a deviazioni gravi; queste ultime sono spesso associate ad arrembatura. (Fig 7).



**Figura 7: FD del carpo (arcatura).**

La loro presenza può impedire al puledro di raggiungere la stazione quadrupedale senza aiuto. Le forme severe sono, inoltre, una delle cause più frequenti di distocia (Embertson 1994; Byron *et al.*, 2002; Auer 2006). Una condizione che può simulare la FD del carpo è la rottura del tendine estensore anteriore del dito, che è però caratterizzata da una tumefazione fluttuante a livello della faccia dorso-laterale del carpo; anche in questo caso la patologia può essere mono o bilaterale. Il riposo ed il bendaggio dell'arto sono sufficienti alla *restitutio ad integrum* del tendine, i cui capi tendono a risaldarsi nel giro di pochi mesi (Embertson 1994; Auer 2006). Nei casi di FD lievi che colpiscano contemporaneamente il carpo e il nodello, i puledri affetti beneficiano della riduzione dell'esercizio, del bendaggio dell'arto e solo occasionalmente è necessario il bendaggio steccato (Embertson 1994). I casi di arcatura lieve richiedono spesso una terapia minima e tendono a risolversi in poche settimane. L'esercizio può portare ad un aggravamento della sintomatologia; i puledri spesso ritornano dopo una giornata al pascolo con un peggioramento della FD associato a tremore degli arti anteriori. Tale sintomatologia è probabilmente legata al dolore provocato dallo stiramento dei tessuti molli coinvolti nella contrattura, in particolare dei tendini flessori. D'altro canto, dopo

una nottata di riposo in box, la FD appare migliorata (Wagner et al., 1982; Embertson 1994; Auer 2006). Il trattamento consiste quindi nell'esercizio controllato e nella somministrazione di FANS; questo richiede un certo impegno e pazienza, seguiti dal graduale ritorno al normale livello di esercizio, man mano che il puledro migliora (Wagner *et al.*, 1982; Embertson 1994; Auer 2006). In caso di FD moderate, al protocollo terapeutico sopra indicato, va associato il bendaggio o la steccatura dell'arto; nel soggetto molto giovane si può ottenere una risposta positiva alla somministrazione di ossitetraciclina. Quando la risposta a tale terapia risulti troppo lenta, l'ingessatura dell'intero arto per tre o quattro giorni risolve completamente la patologia. Quando la condizione è bilaterale, si può alternare l'ingessatura degli arti. Man mano che il puledro migliora, viene reintrodotta l'esercizio in maniera graduale, portandolo dal suo box ad un piccolo recinto, quindi in un paddock, prima di permettergli di correre al pascolo con i suoi consimili (Wagner et al., 1982; Embertson 1994; Auer 2006). Alle volte, l'arcatura può ripresentarsi all'aumentare del livello di esercizio, poiché l'effetto rilassante del bendaggio via via sparisce; in questi casi, per ottenere un appiombamento normale, sono necessari diversi mesi di terapia intermittente. Pazienza e perseveranza sono indispensabili

per ottenere un risultato ottimale (Embertson 1994). Le FD gravi del carpo, che spesso coinvolgono anche i nodelli, sono sempre bilaterali e generalmente hanno una prognosi riservata o infausta per quel che riguarda la possibilità di intraprendere l'attività agonistica. In questi casi a prognosi riservata e che necessitano di costi elevati per la gestione terapeutica, può essere giustificata l'opzione eutanastica. Non è però impossibile ottenere dei buoni risultati con terapie aggressive e prolungate; vanno impiegati ossitettraciclina, FANS e gessi che comprendano l'arto dallo zoccolo al gomito. I gessi possono essere sostituiti dal bendaggio con stecche se il puledro migliora (Embertson 1994). La chirurgia è un'opzione terapeutica, in corso di arcatura, anche per le forme lievi o moderate, ma persistenti; poiché con il tempo tali condizioni possono comunque migliorare, qualsiasi intervento chirurgico in grado di compromettere il futuro atletico del puledro andrebbe rinviato il più possibile. La desmotomia della briglia radiale può dare qualche beneficio a breve termine, ma non sembra essere efficace a lungo termine (Embertson 1994; Auer 2006). Nelle situazioni gravi, l'associazione della chirurgia, della terapia medica e di quella fisica possono salvare alcuni puledri da destinare ad attività differenti da quella atletica. L'incisione della porzione

palmare della capsula articolare con approccio mediale al canale del carpo può apportare qualche beneficio; allo stesso modo, la tenotomia dei tendini dei muscoli ulnare laterale e flessore ulnare del carpo ha dato miglioramenti in corso di grave arcatura. In alcuni soggetti, però, persino l'associazione di tali tecniche non è in grado di dare un rilasciamento dei tessuti molli sufficiente a raddrizzare l'arto in maniera significativa. In questi casi è indicata l'eutanasia (Wagner et al., 1982; Embertson 1994; Auer 2006).

### ***Tenotomia del muscolo ulnare laterale e del muscolo flessore ulnare del carpo***

Il muscolo ulnare laterale, o flessore laterale del metacarpo, origina in parte tendineo dall'epicondilo laterale dell'omero (tubercolo estensorio), avvolto all'origine da una grossa borsa sinoviale, comunicante con la sinoviale articolare del gomito; forma un ventre piuttosto appiattito, robusto, percorso da fasci fibrosi e si continua all'estremità distale dell'avambraccio con un tendine, che si divide in due branche. Di queste la più volare si attacca al margine superiore dell'osso accessorio del carpo (pisiforme o osso sopracarpiano), l'altra, alquanto più stretta, percorre un solco della faccia laterale dello stesso osso in una guaina sinoviale e raggiunge

la testa del metacarpeo accessorio laterale, confondendosi in parte con il legamento collaterale laterale del carpo (Bruni e Zimmerl 1947). Il muscolo flessore ulnare del carpo, o muscolo flessore obliquo del metacarpo, è un muscolo robusto ed appiattito ed ha due capi d'origine. Un capo omerale più grosso, nasce dall'epicondilo mediale dell'omero e dalla capsula articolare del gomito, un capo ulnare, sottile, nasce dalla faccia mediale e dal margine posteriore dell'olecrano, si accosta al margine volare del capo omerale e si fonde con esso. Il tendine terminale, largo, si fissa all'osso sopracarpiano, insieme al tendine sopracarpiano del muscolo ulnare laterale (Bruni e Zimmerl 1947). La chirurgia viene eseguita con il soggetto in narcosi, in decubito laterale sul lato sano. Viene eseguita un'incisione cutanea di circa 5 cm centrata a livello della fisi distale del radio; i tendini d'inserzione vengono identificati ed isolati con dissezione per via smussa e quindi recisi circa 2 cm prossimalmente rispetto all'osso accessorio del carpo. Va posta attenzione ad evitare traumi alla vena ed al nervo palmare laterale. Può accadere di trovare un *core* di tessuto muscolare al centro del sito della tenotomia; in questi casi viene reciso solo il tessuto tendineo periferico. Il tessuto sottocutaneo viene suturato con materiale riassorbibile con sutura continua semplice; la cute con



materiale non riassorbibile con sutura da materassaio orizzontale (Charman e Vasey 2008). Quando in seguito all'intervento chirurgico il grado di estensione dell'articolazione migliora di più del 50%, l'arto affetto va bendato nella sua interezza, utilizzando un'adeguata imbottitura, ed il puledro va confinato in box per due settimane. Se invece il miglioramento risulta inferiore al 50%, si possono applicare bendaggi steccati o si procede all'ingessatura dell'arto, che va però valutato giornalmente (Charman e Vasey 2008).

### ***FD del tarso***

Le FD congenite localizzate al complesso articolare del tarso sono rare. Pochi lavori descrivono tale condizione; solitamente il puledro non riesce ad estendere l'articolazione oltre i 70°. È stata descritta come terapia la resezione della corda femoro-metatarsica, ma a questa deve sempre seguire una prolungata terapia fisica (Trout e Lohse 1981). L'eutanasia è purtroppo l'opzione più spesso indicata a causa dell'importante impegno economico necessario e dell'incertezza della prognosi (Embertson 1994).

### ***Resezione della corda femorometatarsica***

La corda femorometatarsica è puramente tendinea in tutta la sua estensione. Origina in comune col tendine prossimale del muscolo estensore anteriore delle falangi dalla fossa estensoria dell'estremità distale del femore e accompagna tale tendine fino alla parte prossimale della gamba, ove entra prima in rapporto, poi in connessione, con il muscolo tibiale anteriore. Sorpassato il legamento anulare della fascia, a livello dell'estremità distale della tibia, essendo situato innanzi al tendine del muscolo tibiale anteriore, si divide in due branche, che formano un occhiello per detto tendine. Delle due branche una si chiama branca metatarsica, è assai lunga e si espande a ventaglio dietro il tendine del muscolo tibiale anteriore, inserendosi sulla tuberosità del metatarso principale, sulla testa del metatarso accessorio laterale e sulle ossa della seconda serie del tarso. L'altra branca, detta branca cuboidea, più piccola, portandosi in basso e lateralmente, in parte entra a far parte del legamento fundiforme, in parte si fissa alla faccia laterale del cuboide e del calcagno (Bruni e Zimmerl 1947). L'approccio per eseguire la resezione della corda femorometatarsica è a livello del terzo medio della tibia sulla faccia dorso-mediale; si preferisce tale sito rispetto ad un approccio laterale o più prossimale o più distale per diverse ragioni. *In primis*, a questo livello è facile

identificare mediante palpazione il ventre muscolare del muscolo estensore lungo del dito che si trova immediatamente sopra la corda femorometatarsica e l'incisione del setto intermuscolare tra il muscolo estensore lungo del dito ed il muscolo tibiale craniale permette la visualizzazione diretta della corda femorometatarsica. Inoltre tale approccio permette di evitare gli sfondati articolari femoro-tibio-rotulei, il retinacolo estensorio prossimale del tarso, l'arteria e la vena tibiale craniale, la vena safena medialmente ed il nervo peroneo superficiale lateralmente. Un'incisione cutanea di circa 8 cm viene dunque eseguita al di sopra del solco di divisione tra i muscoli estensore lungo del dito e tibiale craniale. La fascia crurale viene incisa per esporre i ventri muscolari; il muscolo estensore lungo del dito viene represso lateralmente in modo da individuare la corda femorometatarsica che viene isolata facendovi passare al di sotto una pinza emostatica curva. A questo punto viene asportato un tratto di circa 2 cm di corda femorometatarsica. La fascia crurale profonda ed il tessuto sottocutaneo vengono suturati con materiale riassorbibile con punti nodosi staccati. La sintesi della cute viene eseguita *more solito* (Trout e Lohse 1981). La terapia post-operatoria prevede, oltre la regolare copertura antibiotica ed antinfiammatoria, due mesi di fisioterapia, alimentazione

correttamente bilanciata ed esercizio regolare (Trout e Lohse 1981;  
Embertson 1994).

## ***CAPITOLO IV***

### ***CLASSIFICAZIONE DELLE MIOPATIE***

Il movimento coordinato ed il tono muscolare a riposo dipende dalla perfetta interazione tra il sistema nervoso e le unità motorie muscolari. Lesioni a livello dei neuroni o delle loro placche terminali (miopatie neurogeniche) o delle fibre muscolari (miopatie miogeniche) possono indurre alterazioni patologiche a livello di muscolatura scheletrica. Il termine miopatia primaria descrive un'alterazione di tipo morfologico, biochimico o elettrico, che si verifica a livello della fibra muscolare, indipendentemente dal sistema nervoso centrale o periferico (Reed et al., 2004). La classificazione delle miopatie primarie in base alle alterazioni patologiche riscontrate risulta difficile, se non impossibile, perché il muscolo scheletrico ha limitate possibilità di rispondere ai vari insulti, per cui patologie eziologicamente differenti condividono espressioni morfologiche simili. Un metodo di classificazione più razionale, quindi, potrebbe risultare la classificazione eziologica. Ciononostante, una ben definita eziologia per le varie forme miopatiche equine non è ancora stata descritta. Perciò sono stati suggeriti vari sistemi di classificazione, che suddividono i disordini

in congeniti, da sforzo, neurologici ed endocrinologici. Un metodo alternativo è di classificare le miopatie in base alle patofisiologia sottostante, ovvero difetti di eccitazione, di propagazione del potenziale d'azione, etc. Poiché anche la conoscenza della patofisiologia delle varie forme miopatiche equine è piuttosto limitata, questo metodo non trova larga applicabilità. Nella pratica clinica si ritiene più utile affrontare un caso di miopia in un cavallo con un approccio orientato all'aspetto clinico. Perciò i cavalli possono essere suddivisi in cinque categorie: soggetti con crampi muscolari durante l'esercizio, soggetti con sole alterazioni di andatura, cavalli con debolezza muscolare, quelli con atrofia muscolare e quelli con rhabdomiolisi acuta e grave, con o senza decubito o morte. Tale categorie non si escludono a vicenda, ma anzi alcuni disturbi possono rientrare in più d'una categoria.

Esiste inoltre una classificazione eziologica che divide le miopatie in neurogene e miogene. Tra le miopatie neurogene si riscontrano: disordini delle cellule del corno ventrale, neuropatie periferiche, disordini della trasmissione neuromuscolare ecc. In quelle miogene troviamo: miopatie traumatiche, infiammatorie, infettive, tossiche, ormonali, circolatorie, genetiche, nutrizionali. E' importante quindi approcciare il paziente miopatico con uno schema di esame clinico

preciso e completo, che comprende: esame clinico, anamnesi sportiva ed ambientale, esami di laboratorio e valutazione genetica del soggetto. Solo seguendo un work-up clinico uniforme è possibile formulare un sospetto diagnostico appropriato. Tra le miopatie miogene quelle di tipo ereditario/genetico/congenito sono oggetto di questo capitolo (Reed et al., 2004)

### ***MIOPATIE MIOTONICHE***

Le miopatie miotoniche del cavallo sono: la paralisi periodica iperpotassiemica, la miotonia congenita e la miotonia distrofica. La miotonia congenita è un disturbo grave e progressivo, molto simile alla distrofia miotonica umana. La patologia è stata descritta in Quarter Horses, Purosangue e Anglo-Arabi-Sardi. Clinicamente è possibile osservare miotonia generalizzata, rigidità dell'andatura, debolezza, marcata intolleranza all'esercizio, difficoltà nel mantenere la stazione sin dalla nascita, ipertrofia marcata e ben definita di alcuni gruppi muscolari. All'esame clinico il soggetto non mostra anomalie morfologiche significative, se non l'ipertrofia, e alla percussione del muscolo la fossetta digitale tende a permanere (prolonged dimpling after percussion) (McGavin et al.,

2001). L'elettromiografia riporta il suono caratteristico della miotonia: potenziali miotonici che crescono e decrescono, producendo il tipico rumore di un aereo che si avvicina e si allontana (waxing and waning myotonic bursts, o dive bomber). Nel cavallo, analogamente a quanto descritto nell'uomo, si sospetta la presenza di un difetto dei canali ionici, ma il tipo di ereditarietà non è stato accertato. La patologia è stata definita anche Distrofia simil-miotonica (Myotonic dystrophy-like) o miopatia distrofia simile (Muscular dystrophy-like) poiché l'assenza di una chiara definizione eziologica non consente di inquadrarla come una vera e propria miotonia congenita (McGavin et al., 2001). Secondo alcune fonti (Montagna 2001), la presenza nel cavallo di complicazioni a comparsa tardiva, quali ipoplasia testicolare, cataratta e distrofia renale, consentono una comparazione tra la miopatia miotonica del cavallo e distrofia miotonica umana (Malattia di Steinert), se non per un aspetto: la risposta all'azione dell'apamina. Rientrano nel quadro delle patologie dei canali ionici (ion channelopathies), alle quali appartengono anche l'ipertermia maligna (sindrome da stress) dei suini, la miastenia gravis, la paralisi periodica iperpotassiemica. Alla base del fenomeno, dunque, non vi è un'alterazione del motoneurone o della placca motrice, ma il malfunzionamento dei



canali ionici del sarcolemma, che causa un'abnorme produzione di depolarizzazioni ripetitive, seguite da ripolarizzazioni, e ritardo del rilassamento. La miotonia infatti, consiste clinicamente nella difficoltà alla decontrazione muscolare dopo lo sforzo, sintomo tuttavia che recede se l'esercizio viene continuato (Marcato et al., 2002). Negli animali domestici si rinviene in quattro condizioni morbose (Marcato et al., 2002): la miotonia congenita e la paramiotonia (congenite e probabilmente ereditarie), la distrofia miotonica (congenita non ereditaria), la miotonia acquisita (acquisita) (Marcato et al., 2002).

***Miotonia congenita (malattia di Thomsen).*** È da riferire ad una mutazione dei canali del cloro a livello dei tubuli T (gene ClC-1) (Montagna et al., 2001), per cui è diminuita la conduttanza di tali ioni (Marcato et al., 2002). Il cloro, che all'esterno delle cellule è circa 27 volte più concentrato rispetto all'interno (l'osmolarità del cloro è circa 108 mOsm nel liquido interstiziale e 4 mOsm nel citoplasma) (Reece 2003), tenderà a concentrarsi all'interno delle fibre, nonostante il richiamo elettrico degli ioni sodio, creando squilibri elettrici. Questa miotonia è stata descritta in capre Angora (Marcato et al., 2002; Montagna et al., 2001), in vitelli (Montagna et al., 2001), in cani Chow Chow (Marcato et al., 2002 ; McGavin

et al., 2001; Montagna et al., 2001) e Stafford terrier (McGavin et al., 2001), e nel gatto, in cui si hanno soprattutto fenomeni di disfagia e disfonia (Marcato et al., 2002). Nel cane colpisce entrambe i sessi (McGavin et al., 2001), è ereditaria, ma non progressiva come le comuni distrofie (Marcato et al., 2002). Si manifesta nei primi mesi di vita con difficoltà a rialzarsi dopo decubito imposto e ipertrofia dei muscoli della coscia e della spalla (ipertrofia atletica). Seppur non aggravata dal freddo, la sintomatologia migliora con l'esercizio (Marcato et al., 2002). L'animale cammina con gli arti anteriori addotti e rigidi, mentre gli arti posteriori possono evidenziare un'andatura 'a balzi di coniglio' (McGavin et al., 2001), segno tipico anche di patologie ortopediche, come la displasia dell'anca. L'esame macroscopico non evidenzia particolari lesioni e quello microscopico è aspecifico: l'ipertrofia delle fibre è accompagnata da degenerazione ialina in fase acuta e fibrosi endomisiale in fase cronica. Al microscopio elettronico i mitocondri sono ingrossati (Marcato et al., 2002). In fase iniziale i muscoli sono nella norma. L'ipertrofia è rilevabile solo all'esame post-mortem, ed è presente in gruppi specifici di muscoli. Con il tempo compaiono ipertrofia e atrofia, fibre in necrosi e in rigenerazione. La fibrosi è leggera, spesso inapparente

(McGavin et al., 2001). Nel gatto la miotonia si manifesta con un'ipertrofia simile a quella osservata nella distrofia X-linked, ma meno marcata. CK e AST sono nella norma o lievemente aumentate. La diagnosi differenziale può essere confermata con l'elettromiografia, che riporta i potenziali tipici sopra descritti (McGavin et al., 2001). In microscopia compaiono masse subsarcolemmali, fibre ad anello (Ringbinden o ring fiber) (McGavin et al., 2001), centralizzazione dei nuclei (McGavin et al., 2001; Montagna 2001), proliferazione dell'endomisio e del perimisio, variazione del diametro delle fibre e splitting pronunciato (Montagna et al., 2001). Non sono molto diffusi focolai di necrosi e rigenerazione: è molto più facile in fase cronica riscontrare la sostituzione di miofibre con depositi di tessuto adiposo (McGavin et al., 2001; Montagna et al., 2001). Questi ultimi caratteri anatomopatologici giustificherebbero la denominazione Muscular dystrophy-like, ma i livelli sierologici di CK e AST e i riscontri elettromiografici sono quelli tipici della miotonia sopra riportati (McGavin et al., 2001). Appare quindi più appropriata la definizione Myotonic dystrophy-like, tenendo conto del fatto che, qualora ci sia una notevole sofferenza cronica, il deposito di grasso potrebbe essere inevitabile in masse muscolari così ben sviluppate

come nel cavallo, che tra l'altro risultano qui marcatamente ipertrofiche. Ma un ulteriore aspetto che differenzia questa forma dalla distrofia miotonica umana e la rende simile alla miotonia congenita, è la reazione del muscolo all'apamina. Questa sostanza tossica ricavata da un veleno, è un bloccante selettivo ad alta affinità per i canali del potassio calcio-attivati, responsabili dei potenziali prolungati post-iperpolarizzazione osservati nelle cellule nervose e nel tessuto muscolare embrionale. Tali canali sensibili all'apamina sono assenti nel muscolo umano sano e nel muscolo di pazienti con miotonia congenita (probabilmente perché mantengono un fenotipo embrionale); sono invece presenti nel muscolo di pazienti affetti da distrofia miotonica e sembrano esserne responsabili dell'attività miotonica-simile. L'apamina è in grado perciò di bloccare le scariche del muscolo affetto da distrofia miotonica, ma non le scariche del muscolo con miotonia congenita. Ebbene nel cavallo affetto dalla forma in questione, l'apamina non ha effetto, così come accade nella miotonia congenita. Non si esclude comunque che si tratti di Distrofia muscolare espressa in uno specifico fenotipo equino, né che si tratti di una particolare miopatia equina da riferire ad altra forma umana (Montagna et al., 2001)

Diagnosi: i marker serici muscolari non sono significativamente aumentati. All'elettromiografia si registrano potenziali di fibrillazione e onde acute positive. L'esame istologico rivela alterazioni minime o non specifiche: una lieve ipertrofia delle miofibre e aspetti occasionali di degenerazione ialina, nei casi iniziali e fibrosi endomisiale, nei casi cronici. I mitocondri sono aumentati di volume alla ME. L'alterazione di base è una diminuita conduttanza di ioni Cl attraverso i tubuli T (trasversi), che sono invaginazioni del sarcolemma attraversanti l'asse longitudinale delle miofibre, i cui lumi si aprono nello spazio extracellulare. La diminuita conduttanza di ioni Cl dipende da mutazioni nei canali ionici per il CL.

***Miotonia Distrofica:*** questa patologia è un raro disordine muscolare caratterizzato da una prolungata contrazione muscolare dopo movimenti spontanei o indotti. Di solito si presenta alla nascita. L'animale colpito da questa miotonia è vigile e risponde agli stimoli esterni. Clinicamente è possibile notare una marcata ipertrofia muscolare e ipertono, soprattutto ai glutei negli arti posteriori e nella regione prossimale di quelli anteriori. I sintomi sono di solito progressivi e comprendono: zoppia, atrofia muscolare, contratture tendinee, scoliosi, coliche e atrofia

testicolare. E' stata descritta nei purosangue, nei quarter horse, ed è possibile trovare in letteratura delle analogie con la distrofia miotonica umana. Sierologicamente l'attività enzimatica è normale (CK e AST). All'elettromiografia è possibile vedere il tipico aspetto miotonico, il potenziale d'azione cresce e decresce emettendo il tipico suono detto dive bomber. La muscolatura facciale, della lingua, di testa e arti all'elettromiografia non mostra anomalità. Hegreberg e Reed descrivono istologicamente fibre ad anello, masse sarcoplasmatiche, nuclei centralizzati nelle fibre muscolari. Per questa patologia non esiste purtroppo una terapia. La distrofia miotonica (malattia di Steinert) nell'uomo è stata descritta la prima volta nel 1909 da H. Steinert, ed è il primo esempio di malattia causata da un RNA patologico (Amack et al., 2004). È ereditata in forma autosomica dominante (Amack et al., 2004), ed ha un'incidenza di 1/8000 (Bates et al., 2004). Fino ai primi anni novanta del secolo scorso la distrofia miotonica umana era attribuita a mutazioni del gene della proteina kinasi miotonina, situato nel cromosoma 19, mentre successivamente sono state identificate forme genetiche distinte: la distrofia miotonica prossimale (PROMM) e la distrofia miotonica tipo 2 (DM2) (Montagna et al., 2001). Attualmente si ritiene che esistano due forme, definite DM1

(Distrofia Miotonica-1) e DM2 (Distrofia miotonica-2) (Bates et al., 2004): non crei comunque confusione l'abbreviazione DM, in genere usata per indicare la Distrofia muscolare. Il difetto della forma DM1 risiede nel cromosoma 9, a livello del gene della distrofia miotonica proteina kinasi (DMPK), e più specificamente nella regione non tradotta dell'estremità 3; il difetto è un'espansione CTG del DNA (che nell'RNA diviene CUG per sostituzione della Timina con Uracile). Il difetto della forma DM2 risiede nel cromosoma 3, nel primo introne della zinc finger protein 9 (ZNF9) ed è un'espansione non tradotta CCTG (nell'RNA CCUG) (Bates et al., 2004; Amack et al., 2004). Tali espansioni tuttavia attribuiscono all'RNA nuove potenzialità e in particolare la capacità di provocare splicing alternativi nei confronti di vari prodotti genici (Reece 2003). Nella patogenesi della malattia perciò sembrano essere coinvolte varie proteine, tra cui sicuramente la Six 5, la cui omologia con il gene UNC-39 di *C.elegans*, rinvenuta nel 2004, ha aperto nuove e più facili strade per le future sperimentazioni (Yanowitz et al., 2004). I meccanismi patogenetici sono infatti ancora molto oscuri, ed è stato riscontrato che in definitiva le mutazioni suddette causano una inibizione della differenziazione dei mioblasti in miofibre (Amack et al., 2004). Gli

studi condotti sulle modalità di inibizione mioblastica hanno evidenziato tre modalità di differenziazione dei mioblasti in miofibre, differenziazione embrionale, differenziazione rigenerativa, differenziazione tipo C2C12, riscontrata nel muscolo murino e completata in vitro. L'espressione di determinati fattori di differenziazione e dei loro recettori è discriminante per l'una o l'altra via, e l'alterazione nell'espressione di tali specifiche proteine in determinati momenti altera anche la rispettiva via di differenziazione (Amack et al., 2004). La forma DM1 può esprimersi in due forme. La forma congenita (CMD1), più severa, compare alla nascita con ipotonia, ritardo mentale e sviluppo muscolare difettoso; si ha 25% di mortalità e i sopravvissuti sviluppano entro i vent'anni la forma adulta. Nella forma adulta, in quanto distrofia, compare debolezza e deperimento muscolare (Amack et al., 2004), ma si hanno complicazioni multisistemiche: atrofia delle gonadi, endocrinopatie, disturbi di conduzione nervosa, disturbi mentali, cataratta (Yanowitz et al 2004). Sebbene i fenotipi negli adulti colpiti da DM1 e DM2 siano simili, casi congeniti e difetti di sviluppo muscolare non sono stati riportati per la DM2 (Amack et al., 2004). La biopsia nella DM1 evidenzia fibre di ridotte dimensioni perché immature, e aumento del numero di



cellule satelliti (Amack et al., 2004). Le fibre di piccole dimensioni non devono essere confuse con fibre atrofiche, in quanto in questo caso hanno i caratteri di fibre immature. Nel 2004 è stata eseguita una correzione della mutazione al gene DMPK con l'uso di ribozimi, piccolissime molecole di RNA (400 basi) capaci di eseguire clivaggi a livello di RNA (idrolizzando i legami fosfodiesterici (Lollini et al., 2001; Phylacton 2004). I ribozimi in natura eseguono azione autocatalitica (definita cis-) su RNA specifico; sono  $Mg^{++}$  o  $Mn^{++}$  dipendenti e sono nuovamente disponibili dopo reazione. Sono stati ottenuti ribozimi per catalizzare tagli in altri siti molecolari (trans-), e complementari a particolari triplette. Il ribozima che agisce sulla tripletta CUG nella DM1 è detto ribozima forcina, per la sua forma caratteristica (Lollini et al., 2001). Per riassumere, la DM dell'uomo è caratterizzata da atrofia muscolare e, a stadi avanzati, da potenziali miotonici elettromiografici. Istologicamente compaiono centralizzazione dei nuclei, fibre ad anello, atrofia delle fibre di tipo I e ipertrofia delle fibre di tipo II. È associata a disturbi sistemici, in particolare cataratta, atrofia delle gonadi ed endocrinopatie (Sarriet al., 1994). Nel cane e nel cavallo, è una distrofia congenita progressiva ma non ereditaria, dove la capacità rigenerativa del

muscolo non è sufficiente, e in particolare risultano: le fibre di tipo II ipertrofiche con eventuale atrofia di alcune fibre di entrambe i tipi I e II; i nuclei si centralizzano in tipiche file continue anche di trenta o più unità; elevata presenza di Ringbinden; infiltrazione di tessuto fibroso e in parte adiposo negli spazi atrofici (Marcato et al., 2002). Nel cavallo i potenziali elettromiografici sono tipicamente miotonici (Sarli et al., 1994). Nel topo, né mutazioni loss-of-function né sovra espressione della DMPK sono esitate in anomalie di sviluppo muscolare. Finora non si è riusciti a riprodurre la malattia nei modelli murini (Amack et al., 2004).

### ***PARALISI PERIODICA IPERPOTASSIEMICA***

Il termine di paralisi periodica iperpotassiemia è un termine improprio per definire tale patologia, in quanto i segni clinici non sono sempre accompagnati da aumenti del potassio sierico. Questa malattia fu scoperta per la prima volta in America nel 1985 in un gruppo di 4 cavalli che presentavano periodicamente episodi di debolezza muscolare e aumento del potassio sierico. Questa patologia presenta delle somiglianze cliniche con l'adinamia episodica ereditaria dell'uomo. Nel cavallo la patologia è causata

dalla mutazione di un gene, trasmesso come tratto autosomico dominante. Questa mutazione induce la formazione di una proteina e comporta la formazione di un canale del sodio anormale. Colpisce Quarter Horse, Paint, Appaloosa e incroci tra queste razze. La malattia è causata da una mutazione di un gene che codifica per i canali del sodio a livello di muscolo scheletrico. Il gene coinvolto è il SCN4A e tutte le mutazioni nell'uomo sono in sub-unità. La malattia fu introdotta da uno stallone che ha dominato per molto tempo l'industria della riproduzione equina. Si stima infatti che il 4% della popolazione di Quarter Horse ne sia affetta. Questa mutazione puntiforme missense (citosina-guanina) interessa una porzione altamente conservata della sub-unità A del gene SCN4A. Si ha dunque un potenziale maggiore di riposo a livello di membrana, creando in una popolazione di canali di sodio una incapacità di inattivarsi dopo la depolarizzazione. Questo induce un eccessivo flusso verso l'interno di sodio seguito da un flusso verso l'esterno di potassio con conseguente depolarizzazione persistente delle cellule muscolari. L'ipereccitabilità muscolare induce tremori muscolari, fascicolazioni, debolezza, fino alla paralisi completa indotta dalla persistente depolarizzazione delle cellule muscolari. Clinicamente il soggetto può essere normale, ma possono essere

presenti fascicolazioni e debolezza, iniziale miotonia, prolasso della terza palpebra, sudorazione, fascicolazioni muscolari focali soprattutto sui fianchi, al collo e alle spalle. Il quadro può evolvere con fascicolazioni generalizzate, aggravate dal tentativo da parte del soggetto di muoversi. Molto comune in questi soggetti è la debolezza, fino al barcollamento, i soggetti possono assumere la posizione di “sitting-dog” e addirittura stare in decubito. Possiamo anche riscontrare rumori e sintomi respiratori quali: stridori, disfagia, collasso del faringe e paralisi laringea. I soggetti appaiono di solito normali tra i vari episodi clinici. Lo scatenarsi di una crisi non è di facile diagnosi, possono però esserci fattori scatenanti come: cambiamenti di dieta, il digiuno, l’anestesia, la sedazione, lo stress, il trasporto, il freddo, la gravidanza e malattie concomitanti. Le diete ad alto contenuto di potassio come nel caso di erba medica, soia, melasso o integratori di elettroliti possono scatenare una crisi. Gli esami di laboratorio durante un episodio includono iperpotassiemia, iponatremia lieve, emocoagulazione. Il CK sierico risulta nel range fisiologico, anche se può essere lievemente elevato alcune ore dopo l’episodio. Nei cavalli affetti da questa miopatia possiamo riscontrare scariche miotoniche anche in soggetti con assenza di manifestazioni cliniche.

Istopatologicamente si nota lieve miodegenerazione e vacuoli. La diagnosi definitiva viene eseguita oggi attraverso test genetici. Nell'uomo la malattia è trasmessa con modalità dominante si presenta con casi sporadici. Questa induce episodi transitori di astenia, talora con miotonia. L'esordio avviene nell'infanzia, gli episodi hanno una durata variabile da pochi minuti a 2-3 ore. La frequenza degli episodi clinici può essere giornaliera o più rara, di solito si hanno durante il riposo dopo esercizio fisico, dopo esposizione al freddo o dopo un digiuno. Clinicamente la paresi inizia agli arti inferiori e alla regione del cingolo pelvico per risalire alle mani, agli avambracci e alle spalle. I riflessi profondi sono diminuiti o assenti. Nell'età adulta gli attacchi possono diminuire o scomparire. Può essere associata anche una miotonia a livello delle mani, dei muscoli oculo-estrinseci e delle palpebre, dei muscoli della faccia. Sono rare le aritmie cardiache. La risposta al freddo e al carico di potassio conferma la diagnosi, è importante durante questa prova monitorare l'attività cardiaca e non utilizzarla se ci sono disturbi renali (Verla 2000).

## ***MIOPATIE MITOCONDRIALI***

Le anomalie della catena respiratoria mitocondriale sono una importante causa di malattia neuromuscolare nell'uomo. Nel cavallo questa miopatia è stata descritta poco, forse per la scarsità nei test diagnostici. Meijer e Van Den Hoven descrissero una alterazione degli enzimi mitocondriali in un cavallo da corsa dopo un attacco di rhabdomiolisi. Valberg et al hanno descritto e confermato un caso di deficienza della catena enzimatica respiratoria mitocondriale in una puledra di razza araba di 3 anni, che presentava intolleranza all'esercizio da quando aveva un anno. Non c'era in questo soggetto aumento dei valori di CK e AST, quattro ore dopo l'esercizio. La compromissione del metabolismo energetico ossidativo risultava in una profonda acidosi lattica la quale si esprimeva in questo soggetto con intolleranza all'esercizio e rigidità muscolare. In un cavallo normale allenato l'acidosi lattica si sviluppa solo quando in caso di sforzo muscolare massimale. Lo screening può essere fatto effettuando un test e facendo eseguire al soggetto un esercizio fisico di bassa intensità. L'intolleranza ad esercizi di modica entità associata ad accumulo di acido lattico è indicativa di un utilizzo insufficiente di ossigeno da parte dei mitocondri muscolari. Se si esegue un esame istochimico del

muscolo si nota una colorazione intensa dei mitocondri. Al microscopio elettronico si nota una carenza nell'enzima della catena respiratoria mitocondriale. I mitocondri sono organuli cellulari deputati alla produzione di energia e alla respirazione cellulare. I mitocondri sono dotati di un proprio DNA (mtDNA), anche se, durante l'evoluzione, la maggior parte dei geni necessari per le funzioni mitocondriali è stata trasferita nel DNA nucleare (nDNA). Queste patologie possono quindi essere causate da mutazioni del DNA nucleare e da quello proprio. Le patologie mitocondriali provocano danno soprattutto a carico degli organi con esigenze metaboliche ossidative elevate, come il sistema nervoso e i muscoli. Nell'uomo i difetti mitocondriali si esprimono prevalentemente nelle encefalomiopatie mitocondriali. Le caratteristiche cliniche sono ptosi palpebrale, oftalmoplegia esterna, debolezza muscolare prossimale, intolleranza allo sforzo fisico, incremento patologico del lattato nel sangue dopo attività muscolare, cardiomiopatie, sordità neurosensoriale, atrofia ottica, retinopatia pigmentosa e diabete mellito. I sintomi a carico del sistema nervoso sono rappresentati principalmente da encefalopatia fluttuante, epilessia, demenza, emicrania, atassia e spasticità. Negli esseri umani, la diagnosi definitiva è possibile in quanto esiste la possibilità di

valutare eventuali mutazioni del DNA genomico e mitocondriale. Forse in futuro, questo sarà applicabile anche ai cavalli, poiché il sequenziamento del DNA genomico e mitocondriale è stato completato.

### ***DEFICIT DELL'ENZIMA RAMIFICANTE IL GLICOGENO***

#### ***(GLICOGENOSI TIPO IV)***

E' un disordine congenito a trasmissione autosomica recessiva dovuto alla perdita di un enzima glicogenico, l'enzima ramificante il glicogeno (GBE). Questa è causata da una mutazione missense del gene GBE. Il deficit funzionale di tale enzima intacca il metabolismo del glicogeno, il quale funge da deposito e da riserva di glucosio, prontamente trasformato in caso di bisogno di energia. Le razze colpite tra quelle equine sono il Quarter Horse e il Paint. La mutazione introduce un codone di stop prematuro, provocando una minore produzione di enzima GBE negli omozigoti. Si stima che circa l'8% di Quarte Horse e di Paint siano portatori di questo gene. Clinicamente possiamo avere aborti, nati mortalità, nascita di puledri deboli o con contrattura, rabdomiolisi o difetti cardiaci ad uno stadio iniziale di sviluppo. I soggetti colpiti sono incapaci di



stoccare e mobilitare il glicogeno per mantenere normale l'omeostasi del glucosio (Bassett et al., 2003). Nei neonati si riscontra ipoglicemia, ipotermia, debolezza muscolare progressiva, incapacità a mantenere la stazione, collasso, convulsioni, deformità flessorie, insufficienza respiratoria e morte (Bassett et al., 2003). Rilievi di laboratorio mostrano leucopenia, ipoglicemia intermittente, moderato aumento di CK-AST-GammaGT (Bassett et al., 2003). Istologicamente si notano inclusioni ialine rotondeggianti simili all'amilopectina nei miociti scheletrici e cardiaci., soprattutto nelle fibre del Purkinje, in modo minore negli epatociti. Inclusi sono presenti anche nel cervello e nel midollo spinale e a differenza del glicogeno sono PAS positivi. Si ritiene che la mancata produzione di energia o la disarchitettura dovuta al deposito dell'amilopectina possano contribuire alla disfunzione cellulare. La terapia non esiste, è possibili però eseguire delle analisi del sangue periferico o del muscolo, nella quale si va a misurare l'attività dell'enzima GBE, questo serve ad identificare gli animali ammalati e le femmine portatrici. Esiste oggi un test del DNA eseguito su peli di criniera e coda per individuare i portatori. La terapia per questa miopatia ad oggi non è ancora stata trovata.

## ***RABDOMIOLISI RICORRENTE DA SFORZO***

E' la malattia muscolare con maggiore incidenza nei cavalli purosangue. Si è stimato che il 5-10% di questi cavalli da corsa sviluppano rabdomiolisi da sforzo nel corso di una stagione agonistica, con recidive fino al 17%. La patologia ha modalità di trasmissione autosomica dominante con un'espressione variabile (Dubowitz 1994). Si crede sia causata da una anomalia nella regolazione del calcio intracellulare. I segni clinici includono crampi muscolari, zoppia, sudorazione profusa, riluttanza al movimento, tachipnea, sindrome colica. Gli episodi si osservano più frequentemente dopo periodi di allenamento, seguiti da pause di riposo. Episodi dopo la corsa si verificano di rado. Sono stati identificati dei fattori di rischio, i quali possono predisporre i soggetti allo sviluppo di questa miopatia, questi sono: giovane età, il sesso femminile, la tempra nevrale. A livello sierico c'è spesso un aumento di CK e AST e mioglobinuria. Tale sindrome è ben documentata in medicina umana, dove sono stati identificati diversi meccanismi patogenetici che ne possono determinare l'insorgenza (Dubowitz Sewry 1997). Istologicamente si osserva necrosi delle fibre muscolari localizzata o diffusa, seguita da infiltrazione di macrofagi e rigenerazione. Sono principalmente colpite le fibre di

tipo 2. La diagnosi si basa su segni clinici e prove clinicopatologiche, le quali evidenziano la presenza di lesioni muscolari. Il trattamento di un episodio acuto comprende la somministrazione di antinfiammatori non steroidei; nei casi più gravi, si consiglia l'utilizzo di analgesici più potenti come il butorfanolo o la detomidina e il riposo. A causa della mioglobina liberata dai muscoli danneggiati è indicata una attenta valutazione della funzionalità renale, per evidenziare la nefrosi pigmentaria mioglobinurica. Il trattamento a lungo termine e la prevenzione possono essere attuati con la correzione di eventuali carenze elettrolitiche, minerali o di vitamina E. Bisogna inoltre effettuare un cambiamento di dieta, la quale deve essere ad alto contenuto di grassi e fibra e a basso contenuto di amido e zucchero, così come nei soggetti affetti da miopatia da accumulo di polisaccaridi.

### ***MIOPATIA DA ACCUMULO DI POLISACCARIDI***

La maggior parte delle alterazioni del metabolismo dei carboidrati è causata, nel cavallo, da deficit ereditari degli enzimi glicolitici, glicogenolitici o degli enzimi lisosomiali (Meyer et al.,1999). La prima miopatia da deficit enzimatico nel metabolismo dei

carboidrati è stata dimostrata da nel 1988 (Valberg et al., 1998). La miopatia da accumulo di polisaccaridi (PSSM) è una miopatia che si esprime con l'accumulo di glicogeno e polisaccaridi anomali nelle fibre di tipo II dei muscoli scheletrici e si rende causa di ripetuti episodi di raddomiolisi nei Quarter Horse e nelle razze correlate come gli Appaloosa ed i Paint Horse (Valberg et al., 1997; Valberg et al., 1999). La patologia è, inoltre, stata segnalata anche in razze non correlate ai Quarter come gli arabi, i pony incroci della razza Welsh, i mezzosangue ed altri incroci. Nel Quarter Horse la patologia sembra legata ad un aumentato assorbimento del glucosio da parte del muscolo piuttosto che ad una sua ridotta utilizzazione. Non è stato possibile evidenziare, infatti, difetti enzimatici glicolitici (deficit di amilasi) né difetti degli enzimi per la ramificazione del glicogeno (GBD) che giustificassero l'accumulo anomalo di polisaccaridi. La patologia sembra essere, secondo quanto descritto da Valberg et al (Valberg et al., 1998), simile ad una glicogenosi umana determinata da una maggiore espressione dei recettori GLUT-4 sul sarcolemma delle fibre muscolari dei soggetti malati. L'assorbimento muscolare del glucosio è regolato dall'insulina attraverso l'espressione dei recettori GLUT-4 sulla membrana plasmatica, recettori che

aumentano la penetrazione del glucosio all'interno del sarcoplasma, attraverso un meccanismo di diffusione facilitata. Nei soggetti affetti da PSSM si evidenzia una più rapida diminuzione della glicemia dopo somministrazione orale di carboidrati ed un livello di insulina circolante minore rispetto ai soggetti controllo. I cavalli malati mostrano, quindi, una maggiore sensibilità all'insulina e presentano un'ipoglicemia prolungata dopo somministrazione d'insulina per via intravenosa. L'analisi del pedigree dei soggetti affetti da tale patologia ha potuto dimostrare l'esistenza di un gene autosomico recessivo che determina l'ereditabilità della condizione morbosa. Con il termine di Miopatia da Accumulo di Polisaccaridi Equina (Equine Polysaccharide Storage Myopathy EPSM) viene definita una patologia simile alla PSSM riportata in soggetti di razza Draft. Sebbene le alterazioni anatomopatologiche risultino del tutto simili a quelle PSSM, le patologie sembrano avere sintomi e incidenza diverse. Tra i sintomi dell'EPSM sono riportati dei casi di morte improvvisa attribuiti all'accumulo di polisaccaridi anomali anche nelle fibre muscolari cardiache, anche se tale alterazione è stata dimostrata in un solo soggetto malato (Valentine et al.,1999). Un'altra glicogenosi descritta nei soggetti di razza Quarter horse è la Glicogen Brancher Enzyme Deficiency (GBED) letteralmente:

deficienza dell'enzima per la ramificazione del glicogeno. La patologia, descritta per la prima volta nel 1999 da Render et al., (Render et al., 1999) e descritta, successivamente, nel 2001 e 2003 (Sponseller et al., 2003; Valberg et al., 2001), è riportata in puledri e feti abortiti di razza Quarter e American Paint e provoca alterazioni simili a quelle descritte in corso di PSSM. Tuttavia, la patologia, ad esito mortale, è dovuta ad una alterazione autosomica regressiva semplice che determina una diminuzione della sintesi dell'enzima responsabile della formazione delle catene polisaccaridiche laterali del glicogeno determinando un accumulo di poliglucosani anomali nel sarcoplasma. La diagnosi, oltre che sul reperto anatomopatologico, si basa sulla misurazione dell'attività dell'enzima GBE nel sangue e sull'analisi genetica che mostra l'alterazione del gene GBE1. I segni clinici sono: rabdomiolisi sporadica o episodica, intolleranza all'esercizio, debolezza, rigidità, fascicolazioni muscolari, mialgia, anomalie nella deambulazione, dolore alla schiena e atrofia muscolare. Sono riportati anche aborti e mortalità perinatale. A livello sierologico c'è un aumento della CK, che può essere concomitante all'esercizio ma anche a riposo. Anche se la base ereditaria è stata dimostrata non esiste ancora in commercio un test genetico per la diagnosi di questa patologia. Il

gold standard per la diagnosi quindi resta la presenza di inclusioni PAS-positiveE nei campioni prelevati in corso di biopsia muscolare; queste inclusioni sono resistenti alla digestione con amilasi (Hulland 1993).

## ***PARTE SPERIMENTALE***

### ***INTRODUCTION***

Limb deformities are common musculoskeletal diseases observed in foals (Adams and Lescun 2011). The term “deformity” indicate a flexion, extension or deviation of otherwise normally developed anatomical structures. A Flexural Deformity (FD) is a deviation in the caudo-cranial plane expressed as a persistent joint hyperflexion (Auer 2006). Congenital FD (CFD) are present at birth, whereas Acquired ones (AFD) develop during the growth period in young foals (Stashak 2011). Many definitions are reported to describe the different clinical presentation: limb contraction, tendons contracture, arthrogryposis, contracted foals syndrome (Embertson 1994). Limb contraction was noted in the forelimbs in 0.4% of all horses presented for examination at institutions participating in the Veterinary Medical Data Program (Wilson et al.,1990) and was reported in 20% of necropsies performed on 608 deformed fetuses or newborn foals (Crowe e Swerczek 1985). The aetiology is largely speculative. The most frequently causes mentioned of CFD are in utero malpositioning and reduced foetal movements by a



limited uterine space during the latter part of gestation. More likely, CFD are multifactorial in their origin conditions (Auer 2006). Exposure during gestation to infective and toxic agents, ingestion of locoweed or hybrid Sudan grass by pregnant mare, genetic defects and hypothyroidism were associated to such deformities (Embertson 1994). A neuromuscular aetiology was demonstrated, as well (Mayhew 1984; Mc Kinnon 1984). The evidence in these cases may only be circumstantial and actually the disease and its causes need for further investigations (Auer 2006). Contractural deformities may be displayed in various degrees of severity and may involve several limbs and joints. Forelimbs are affected more frequently than hind limbs. Generally CFD are found centred on the carpus and the fetlock; less frequent is the involvement of the coffin joint and rarely is affected the tarsus (Embertson 1994). In addition to limb contractions, other concurrent malformation, i.e. from quite mild to very severe scoliosis and/or torticollis, abdominal wall incomplete closure, facial malformations (brachignatism), rupture of extensor tendons, etc., have also been reported (McLaughlin and Doige 1981). AFD can be unilateral or bilateral and metacarpophalangeal and interphalangeal joints are often involved (Finocchio 1973; Embertson 1994; Auer 2006). Whereas some

cases of CFD will resolve spontaneously, others require conservative or surgical treatment. AFD are treated with correction of the management, corrective shoeing and surgery (Auer 2006; Adams e Lescun 2011; Embertson 1994; Rooney 1966; Boyd 1976). On the basis of the plurality of clinical presentations and the differences in the response to the therapy it is possible to consider that flexural deformities are not a disease entity but rather a symptom and that more than one disease process may be responsible for the same clinical manifestations. In human medicine severe muscle weakness and contractures are deemed the most reliable indicators of neuromuscular disorders and infants with neonatal hypotonia are carefully assessed (Vasta et al., 2005). Such disorders cause muscular weakness at a critical period during intrauterine life. So, the contractures will be produced by any disorders of the central nervous system, peripheral nervous system, motor end plate or muscle that immobilize the developing foetus (Engel 1994). Standardized early examinations, comprehensive of serum creatine-kinase (CK) and metabolic investigations, neurophysiology (electromyography and nerve conduction velocity studies), neuroimaging (cranial ultrasonography and magnetic resonance imaging) and muscle or nerve biopsy of affected children

is mandatory to a better understanding of the underscored disorder and to begin the most appropriate therapy (Vasta et al., 2005). Aims of the study were to describe a case series of FD, in order to evaluate the role of the congenital neuromuscular diseases in the etiology and pathogenesis of FD, to suggest a diagnostic algorithm and to verify the clinical usefulness of the muscular biopsy in the diagnostic *iter*.

## **MATERIALS AND METHODS**

All the foals referred from 2005 to 2012 at the Department of Veterinary Medicine and Animal Productions of the University of Napoli Federico II, due to contractural limb deformities, hypotonia and/or muscular weakness, in which a muscular biopsy was collected, were included in this study. Biopsies were collected from living foals with the owner's consent or during necropsy in stillbirth and dead foals. Two biopsies were collected from dead foals at the Rood and Riddle Equine Hospital during a 3 months period in 2011. The living foals were examined as soon as possible after birth and all concerning data were collected. Perinatal available information were collected for both living and dead foals.

These included presence of consanguinity and family history, i.e. presence of other contracted foals in the sire's or mare's offspring, need for help in standing and feeding, timing of colostrum uptake. Data from clinical evaluation, i.e. heart rate, respiratory rate, rectal temperature, mucous membrane appearance, capillary refill time and mental status, were collected for the living foals. Orthopedic examination, i.e. joints affected and severity of the contracture, was performed. All the subjects were also inspected for the presence of other concurrent malformations. Necropsies were performed in dead foals. Routine bloodwork, i.e. CBC, electrophoresis of serum proteins and a complete chemistry profile, including muscular markers such as CK, AST and LDH, were performed. When flexural deformities were associated to muscular weakness and mandibular prognathism, thyroidal hormones concentration was also evaluated.

### ***BIOPSY***

Biopsies were collected in living foal from *m. triceps brachii* and/or *m. gluteus*, after sedation (diazepam 0.1mg/kg; butorphanol 0.04 mg/kg) and local anesthesia directed into the subcutaneous, but not

muscle, tissue. Following a vertical incision in the skin and muscle fascia, two parallel incisions 1.5 cm apart and about 2 cm long were made in the muscle. The muscle was grasped in one dorsal corner using forceps to avoid crushing other portions of the biopsy. A cross-secting incision was made dorsally, the muscle sample was excised in a ventral direction to a depth of one to two cm and the sample was then excised ventrally. The samples were snap frozen in isopentane precooled in liquid nitrogen and fixed in 2.5% glutaraldehyde, for ultrastructural analysis. In one case (n° 7) the biopsy was also collected from the *caput radiale mi. flexoris digitalis profundis*. All the specimens were sent to the laboratory of the Unit of Pathology of the Department of Veterinary Medicine and Animal Productions of University of Napoli Federico II. Samples collected at the Rood and Riddle Equine Hospital were stored at the Equine Neuromuscular Lab, University of Minnesota, before shipment to Italy.

## *LIGHT MICROSCOPY*

Cryosections (8  $\mu\text{m}$ ) were sent to the laboratory of the Unit of Pathology of histochemical and immunoenzymatic staining and reactions.

Sections were stained by: hematoxylin and eosin (HE), periodic acid-Schiff (PAS), oil red-O, Engel trichrome, reduced nicotinamide adenine dinucleotide tetrazolium reductase (NADH-TR), succinate dehydrogenase (SDH), cytochrome oxidase (COX) and adenosine triphosphatase (ATPase) pH 4.3 and 9.4.

Hematoxylin and eosin-stained sections were evaluated for necrotic myofibers, inflammation and fibrosis. Periodic acid-Schiff-stained transverse sections with amylase digestion were evaluated for overall fiber diameter, angular atrophy, and for chronic myopathic changes, i.e. increased fiber size variation and presence of internal nuclei. Fiber size variation was determined by subjective evaluation. Internal nuclei were defined as myonuclei present 1 nuclear diameter or more from the sarcolemma.

Immunohistochemical analysis to investigate the presence of Dystrophin were performed in several cases, using antibodies directed against Dystrophin rod domain (clone Dy4/6D3,

Novocastra Laboratories Ltd UK, dilution 1: 50) and Dystrophin c-terminus domain (clone Dy8/6C5, Novocastra Laboratories Ltd UK, dilution 1: 50) (HRP immunohistochemical method).

### ***ELECTRON MICROSCOPY***

Glutaraldehyde-fixed muscle biopsy specimens were postfixed in osmium tetroxide, and were dehydrated in serial alcohol solutions and propylene oxide prior to embedding in araldite resin. Thick sections (1  $\mu$ m) were stained with toluidine blue for light microscopy and ultrathin sections (60–90 nm) were stained with uranyl acetate and lead citrate for electron microscopy.

### ***THERAPIES AND FOLLOW-UP***

The therapies were chosen depending on the severity of the deformity according to those reported in literature, i.e. oxytetracycline intravenously, casts or splinted bandages, pain management, anterior extensions, distal check ligament desmotomy, etc (Adams e Lescun 2011; Embertson 1994; Magdesian 2003; Lokai e Meyer 1985). The casts and the bandages

were applied with subject under sedation and with regional anaesthesia; when possible, during these procedures the biopsies were collected, as well. In some cases, the subjects were put under general anaesthesia to perform the biopsy. In dead subjects, biopsies were collected during the necropsy, performed immediately after death.

Follow-up and outcome of all foals were recorded.

## **RESULTS**

### ***HISTORY***

Fourteen foals were included in this study, 6 female and 8 male. There were 8 Standardbred, 2 Warmblood, 2 Thoroughbred, 1 pony, 1 donkey (tab. 1). All foals but one presented CFD. The foal 7 was affected by AFD. Three foals (10, 12, 14) were stillbirth and were born by dystocic delivery. Foals 11 and 13 were born alive after a dystocia. The pony and the donkey (1, 9) were evaluated when they were 10 month and 12 month old respectively, but stiffness and FD were present from birth and worsened progressively during the time. Biopsies were performed in 6 living foals (1, 2,5,7,8,11) and in 8 after the death (3,4,6,9,10,12,13,14).



For none of the foals was possible to collect any information about sire's progeny. The dam of one foal (2) had another foal with FD and her daughter delivered an affected foal as well. Both cases were mild and resolved spontaneously with controlled exercise. The dam of the pony (10), bred by the same stallion, delivered a dead foal affected by CFD in the previous year. No other familiar correlations were found.



**Figura 8: pony 10 months (CCD) FD; Proximal weakness fetlocks e IP joints all 4 limbs**



**Figura 9: (follow up) Warmblood (CFTD) mild FD front fetlocks**



**Figura 10: Standardbreed 1 day lipid storage myopathy severe FD, weakness, torticollis, scoliosis**



**Figura 11: Standardbred 15 days mild unspecific myopathy, weakness, patent urachus, septicemia, front fetlocks**



**Figura 12: Standardbred 1 day MM e CFTD, FS more severe front limbs than hind limbs**

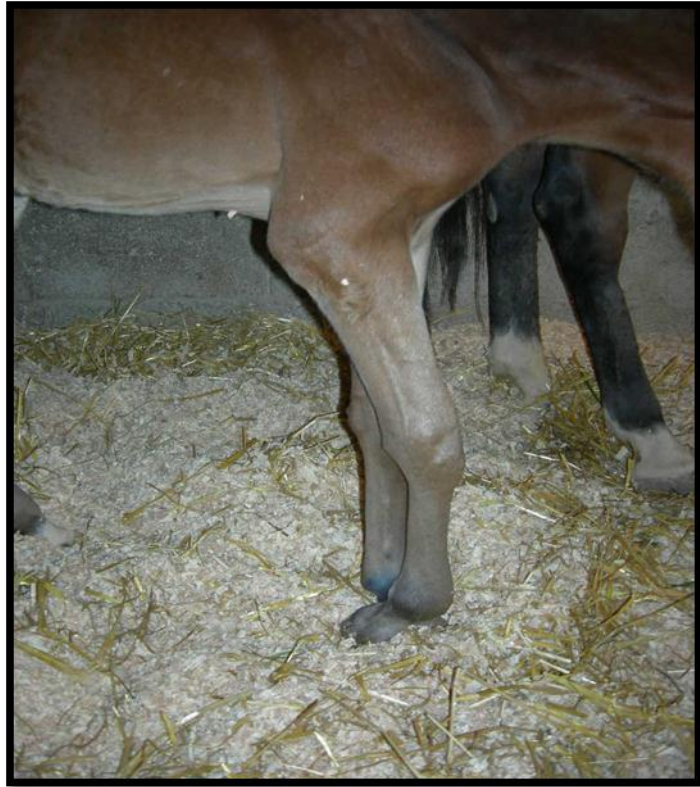


**Figura 13: Standardbreed 8 days mild unspecific myopathy, FD, patent urachus, septicemia, carpe e fetlocks front limbs**



**Figura 14: Standardbreed 7 months MM, FD, more severe right front limb, fetlocks e lp joints front limbs**





**Figura 15: Standardbred 1 day nemaline-like rods myopathy FD, weakness, mandibular prognatism, carpi e fetlocks front limbs**



**Figura 16: Donkey 12 months lipomatous muscle dystrophy e CCD, FD congenital bilateral patellar luxation fetlocks**

## ***CLINICAL EXAMINATION***

Four subjects (4,5,8,9) needed help to reach and maintain station; one filly (13) was not able to stand up due to weakness and severity of FD and she died about 2 hours after birth for respiratory arrest, without any prodromic sign.

In four cases (4,5,6,8) the colostrum intake was estimated insufficient to transmit adequate immunity. This was confirmed by serum protein electrophoresis in two cases (5, 8) and by a snap test (SNAP® Foal IgG Test, Idexx Laboratories) in the other two (4,6).

In nine living foal evaluated (1,2,4,5,6,7,8,9,11) all the parameters considered during the clinical evaluation were within the reference ranges. Foal 3 was critical and presented signs of respiratory distress. Two cases (4, 6) were complicated by patent urachus and omphalitis.

In two cases (2,9) the deformity was localized bilaterally at the fore limb fetlock. In the case 9 (donkey) was present stiffness of the hind limbs and patellar lateral luxation. In seven subjects (3,4,5,6,8,10,13) both carpus and fore limb fetlocks were affected.

In one subject (7) were involved the coffin joint and the fetlock of both fore limbs. In four cases (5,6, 8) the contractures were

moderate; in three subjects (3,9,10) the deformities were severe and in three (1,2,4) were mild.

Foal 7 developed an AFD when was 7 month old with a typical bilateral clubfoot. Five subjects (1,3,4,6,8) presented severe weakness or moderate hypotonia of the proximal muscles. In 4 foals (3,6,8,9) other congenital anomalies were present: case 3 had concurrent *torticollis* and scoliosis; case 6 presented bilateral rupture of *common extensor tendon*; case 8 had mandibular prognathism and case 9)had also bilateral patellar luxation; case 11 had entropion of the inferior right eyelid. None of the five foals that underwent necropsy had other gross malformations more than those described.

### ***HEMATOCHEMISTRY***

All the subjects had at birth CBC within the normal range. Muscular markers values ranged from normal to raised. In foal 1 increased activity of AST (aspartate aminotransferase), LDH (lactate dehydrogenase) and CK (creatine kinase) was present; in foals 5, 7 and 13 increased activity of LDH and CK was found and in another one (8) only increased activity of LDH were found. Foal 13 presented high values of alkaline phosphates (2018U/L, range

50-175), total bilirubin (2.3 mg/dl; range 0.8-2.0), creatinine (3.8 mg/dl; range 0.8-2.0), glucose (184.6 mg/dl; range 60.0-110), sorbitol dehydrogenase (SDH) (7.6 SU; range 0.8-4.2), CK (1230 U/L; range 50-250), phosphorus (9.3 mg/dl; range 3.0-6.0). AST serum concentration was low (68.0 U/L; range 80.0-250.0). In one foal (8) that presented concurrent mandibular prognathism, thyroid hormones activity was evaluated. T4 values were higher (3.5 µg/dl; normal value 2.572 µg /dl) than the reference range, while T3, fT3 and fT4 were lower (respectively 99.1 ng/dl, normal value 192 ng/dl; 2.6 ng/L, normal value 13.3ng/L; and 0.8 ng/dl, normal value 1.756 ng/dl).

## ***BIOPSY***

In one foal (1) the bioptic specimen was obtained from *m. gluteus* with the subject under general anaesthesia. *M. triceps brachii* specimen was collected from three subjects (2,5,8): one foal (2) was under general anaesthesia, the other two foals (5,8) were sedated. *M. gluteus*, *m. triceps brachii* and *caput radiale mi. flexoris digitalis profundi* specimens were all collected in the foal (7) with fetlock and coffin affected and the subject was under general



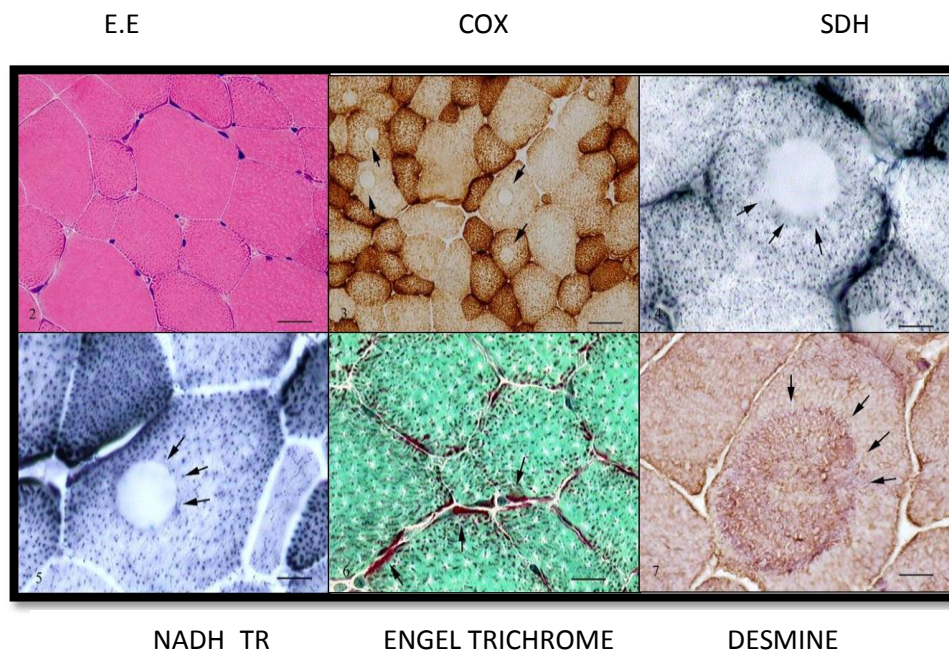
anaesthesia. Both *m. gluteus* and *m. triceps brachii* specimens were collected in the foals (3,4,6,9,10) in which biopsy was performed post-mortem.

## ***LIGHT MICROSCOPY AND ELECTRON***

### ***MICROSCOPY***

**Case 1:** sections stained with H&E had few abnormalities. Nuclei were mainly subsarcolemmal, but some fibers had internal nuclei. There was no proliferation of endomysial or perimysial connective tissue or fat and no signs of inflammation. In COX-, SDH-, and NADH- TR-reacted sections, the dominant morphologic feature was the absence of oxidative enzyme activity in the center of many fibers. These areas were circular in shape (cores) and contrasted sharply with the normal enzyme activity in the rest of the muscle fibers (Fig. 17). Cores were evident in type-1 and type-2 fibers, and no type predominated. With PAS staining, the cores appeared as light zones, and other abnormalities were not evident. Using the antibody against desmin, cores were more easily visible, and the desmin network appeared markedly modified, with sharp delineation of the cores and abnormal distribution of desmin in the

cores (Fig.17). On electron microscopy (EM), the core areas were characterized by preserved sarcomeres, with some having slightly shorter length than that of the peripheral myofibrils; the Z-lines were irregular, with some streaming or a zigzag appearance (Fig.17), but sometimes were completely disrupted “structured cores.” Sarcoplasmic reticulum profiles and T-tubules were visible within the cores, but they were abnormal, with dilated and vacuolated cisternae (Fig.17); furthermore, the mitochondria were decreased in number or absent in the cores, but an accumulation of them was evident in the subsarcolemma.



**Figura 17: Histologic and Immuno-histochemistry of muscle affected by Core-like disease**

**Case 2:** Morphological and histochemical staining revealed small type 1 fibers and type 1 fibers predominance (fig 18 ). Imagine analysis confirmed that type 1 fibers are smaller than 12% than type II fibers (fig 19). A diagnosis of Congenital fiber type disproportion (CFTD) myopathy was made.

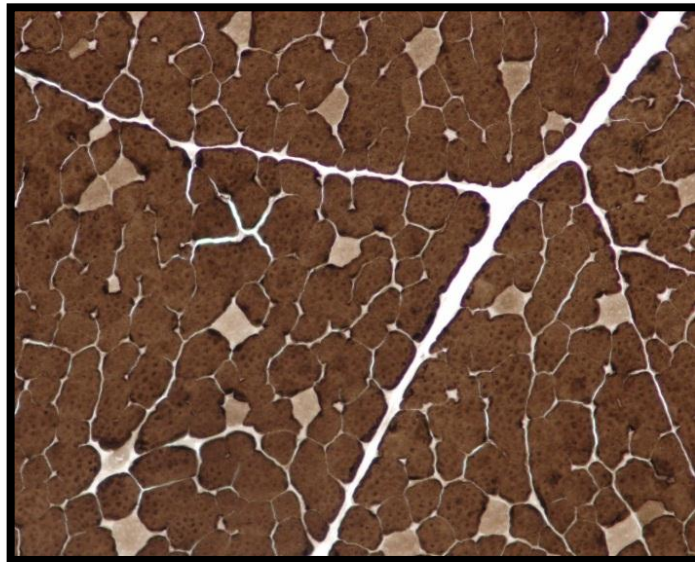


Figura 18: CFTD ATPase Ph 9,4

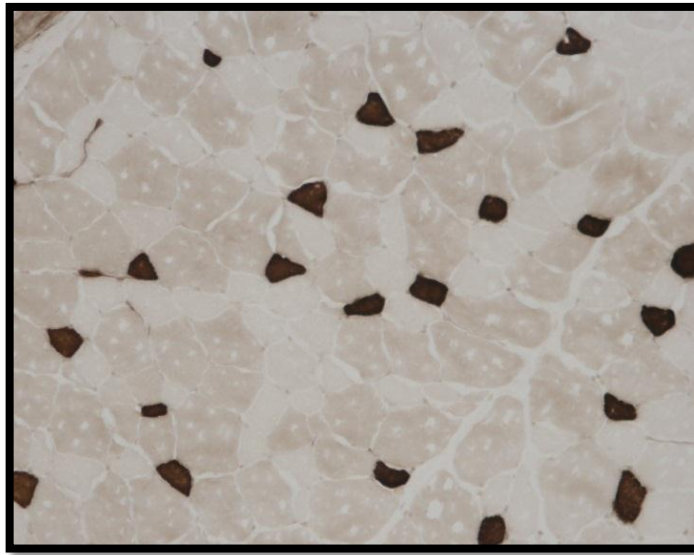
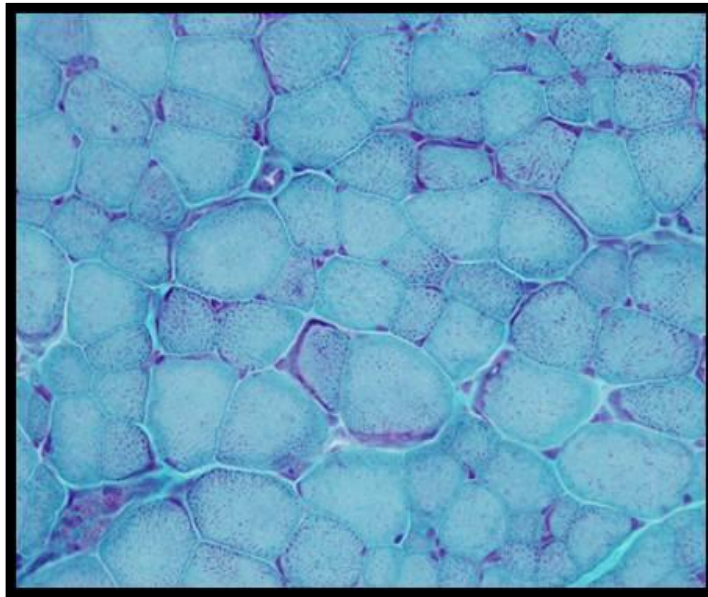


Figura 19: CFTD ATPase PH 4,3

**Case 3:** oil red O and ultrastructural examination showed lipidic intracytoplasmatic and subsarcolemmatic drops. Lipidic drops were mainly, but not exclusively in type 1 fibers. A diagnosis of Lipid storage myopathy (LSM) was made.

**Cases 5 and 7:** HE staining showed both single atrophic fibers and fibers with a basophilic rim along the sarcolemma. Sections stained with Engel trichrome had many “red ragged fibers” with subsarcolemmal and intermyofibrillar deposits of reddish granular material (fig 20).



**Figura 20: Engel Trichrome "ragged red fibers"**

SDH and NADH-TR stains demonstrated concentration of oxidative activity at the periphery of the fibers. Some muscle fibers failed to stain for COX. Residual subsarcolemmal COX activity was seen in a few fibers (Moth Eaten fibers) (fig 21). Ultrastructural examination was not performed. Diagnosis of mitochondrial myopathy was made.



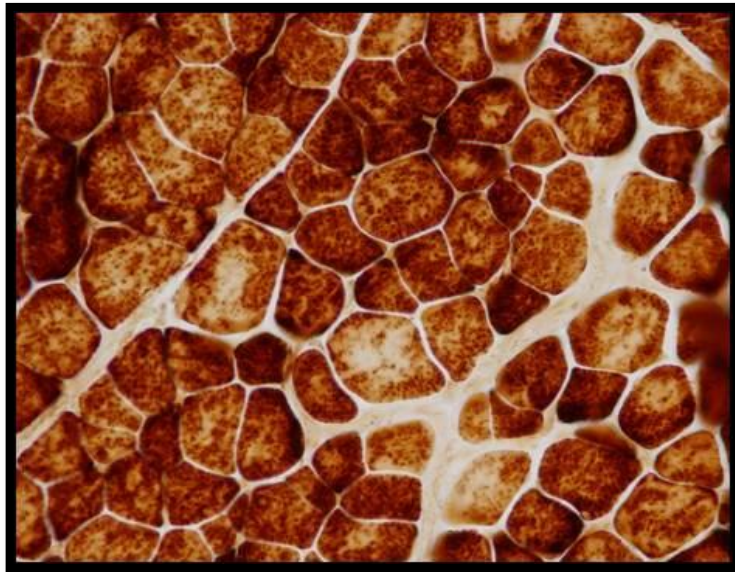


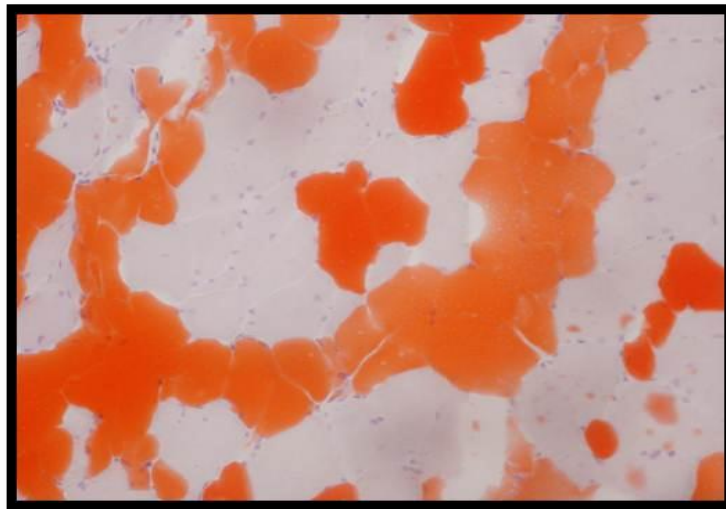
Figura 21: COX "Moth eaten fibers"

Furthermore, at ATPase stain a type I fibers predominance was found in case 5.

**Case 8:**the Engel trichrome staining showed several red intracytoplasmatic aggregates referable to *nemaline-like rods*. The HE staining showed a moderate variability in size of the fibers' diameter, presence of atrophic fibers in angular shape and some round degenerating fibers. NADH-TR showed many fibers with a modified myofibrillar pattern. With SDH staining numerous fibers showed an increase in the enzyme activity in subsarcolemmal position (Pre-Ragged Blue fibers). The COX staining showed several moth-eaten fibers. The ATPase at both pH (4.3 – 9.4)

showed a prevalence of type II muscle fibers. On the basis of these results a diagnosis of nemaline-like rods myopathy was made.

**Case 9:** Morphological staining revealed an intra and perimysial infiltration of adipose tissue (fig. 21) varying in distribution and severity, changes in muscle fiber size and increased number of fibers with centrally located nuclei, suggesting muscle degeneration-regeneration. Necrosis and inflammatory cells were also seen. Furthermore, proliferation of connective tissue and non-specific myopathic changes were present.



**Figura 22: Oil Red lipomatuse muscle dystrophy**

Furthermore NADH-TR and COX- stains demonstrated the absence of oxidative enzyme activity in the center of many fibers. These areas were circular in shape (cores), contrasted sharply with

the normal enzyme activity in the rest of the muscle fibers and evident both in type-I and type-II fibers. Fiber type grouping was shown at the ATPase stain. Immunohistochemical analysis to investigate the presence of Desmin, Disferlin, Dystrophyn (RoD and COOH) showed a normal expression of the proteins examined. A diagnosis of Lipomatous muscle “dystrophy” and Core like myopathy was proposed.

**Case 11:** (Fig 22) Histological evaluation of muscle biopsy taken before surgery showed numerous pathological changes typical of neurogenic myopathy including angulated atrophic fibers, often arranged in small groups, at the H&E and Engel Trichrome stains, presence of *moth-eaten* fibers at COX stain and hyperchromatic fibers and hypertrophic neuromuscular junction at the non-specific Esterase stain. At the second biopsy, collected during the surgery when the filly was 5 months old, histology confirmed the presence of a neurogenic disorder. Obviously muscle fibers were more differentiated, therefore it was possible to distinguish that type I fibers were more severely affected than type II ones, as often seen in several congenital myopathy (Dubowniz et al., 2007). Furthermore at ATPase stain a type I fiber predominance was found.



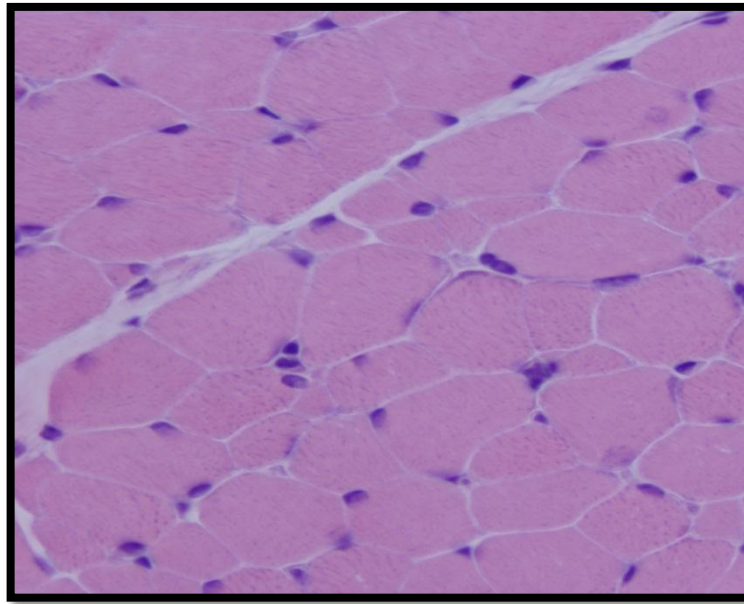
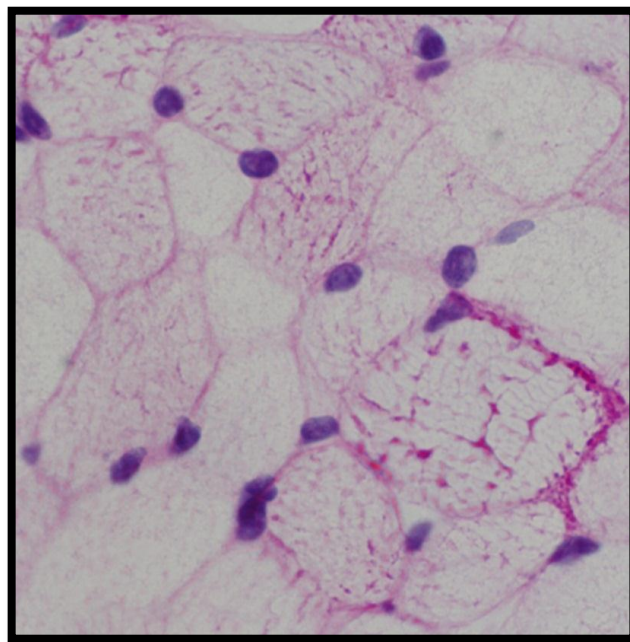


Figura 23: Atrofic fiber

**Cases 4, 6, 10, 12 and 14:** At H&E and Engel trichrome stains, major histological features of muscle biopsy were a moderate variability in fiber size, presence of round, hypertrophic and intensely stained degenerated fibers and multiple necrotic fibers with sarcoclastosis. Other histoenzimatic profiles was normal. Since the presence of necrotic fibers and sarcoclastosis is common in both acquired and congenital myopathies, as well as in muscle Dystrophy, immunohistochemical analysis to investigate the presence of Dystrophin was performed. The analysis showed a normal expression of both Dystrophin domains, therefore a final diagnosis of mild unspecific myopathy was made.

**Case 13:** (fig 23) Major microscopic lesions found in muscle biopsy was the presence of vacuolated fibers and fibers showing intrasarcoplasmic rimmed vacuoles, which were optically empty at H&E and Engel Trichrome stains. Mostly of these vacuoles were positive at PAS stain, demonstrating an accumulation of glucidic material inside the vacuoles. A final diagnosis of vacuolar myopathy was made, suggestive of a congenital equine glycogenosis.



**Figura 24: Vacuoles were positive at PAS**

## ***THERAPY AND FOLLOW-UP***

In one subject (1) no therapy was needed, as the pathology was very modest. In three cases (3,6,9) only supportive therapy was administered: in one (6) was not applied any therapy for the FD because of the owner's will, in the other two (3,9) it depended on the concurrent severe pathologies (*torticollis*, scoliosis and bilateral patellar luxation). In one foal (2) it was sufficient the intravenous administration of oxytetracycline to obtain the resolution of the contracture. In one subject (4) the oxytetracycline administration was associated with casting of the affected limb. In two cases (5,8) oxytetracycline administration was followed by splint bandage and anterior extension of the hoof of the affected limbs. In one subject (7) the therapy chosen was distal check ligament desmotomy, followed by bandage and anterior extension of the hoof. In those subject (4,6) with omphalitis and/or patent urachus an antibiotic therapy was administered. In the foals (4,6,8) with insufficient immunity transmission, hyperimmune plasma was administered. In one foal (1) the pathology was mild at the first presentation, but had a progressive course until the subject was no longer able to reach station and died as a result of complication from prolonged recumbency. Two subjects (3,9) were euthanatized because of the

concurrent severe malformations (*torticollis* and scoliosis, bilateral patellar luxation) and the lack of response to supportive therapy. Two foals (4,6) died in 15 days for septic complication of the omphalitis. Four foals (10,12,14,15) were stillbirth due to dystocia. Foal 11 improved after administration of oxytetracycline, splint bandages and anterior extensions. Contractures relapsed 3 months later. Then the foal underwent distal check desmotomy and anterior extensions and a further biopsy of the *m. gluteus medius* and of the *m. triceps brachii* was collected. The foal was slowly and progressively improving, but due to the occurrence of pelvic fracture it was euthanized. Foal 13 had severe weakness and FD at birth, had supportive therapy and seemed to ameliorate, but two hours after birth died without any prodromic sign. All the other subjects (2,5,7,8) had a complete recovery from the pathology, regardless of the severity of the pathology. Foals 2 was not never used for agonistic purposes. Analysis of database of the Italian standardbred breeders association (ANACT) shows that foal 8 has never raced and foals 5 and 7 have raced a few races, winning each about 1.000,00 €. The referring vet of the 7 reported that the filly showed exercise intolerance and bouts of rhabdomyolysis, associated with high serum activity of CK and AST.

## **DISCUSSION**

The term “congenital myopathy” (CM) was introduced in scientific literature in 1956. In humans, the CMs are neuromuscular disorders with age of onset mostly in childhood and occasionally in the adults. They are usually familial and slowly progressive or non-progressive (Sharma et al., 2009). In Equine medicine, although muscle disorders are a common cause of suboptimal performance or even disability to perform, research is limited compared to human medicine (Westermann et al., 2007). In the horse, both acquired and inherited forms of muscle diseases have been described. Horses have a number of muscle disorders which share similar clinical, histopathological and in some cases molecular features with human. Thus the horse can be considered as an animal model for human disease (Aleman 2008) . However a lot of questions are still to be answered and etiopathogenesis is frequently unclear. Very few genes associated with muscular disease have been identified in horses up to now. Muscular stiffness, cramping or pain, fasciculations, muscular atrophy and exercise intolerance are indicated as mayor symptoms of muscle disorders (Nollet and Deprez 2005). In human medicine, muscle weakness and contractures are deemed the most reliable indicators of a

neuromuscular disorder and should be carefully assessed in an infant with neonatal hypotonia (Vasta et al., 2005). Neuromuscular disorders and myopathy are included in the possible aetiology of CFD (Mayew 1984; Embertson, 1994; Reed et al., 1988; Paciello *et al.*, 2006) and muscle weakness, contractures and stillbirth are reported in congenital glycogen branching enzyme deficiency (Render et al., 1999; Valberg et al., 2001). However, until now, CFD are currently treated by practitioners, in absence of a specific diagnostic *iter* aimed to identify in each case the etiopathogenesis of the disease. This case series includes an heterogeneous group of foals, different for breed, clinical presentations, hematochemistry, histopathology, response to therapy and follow-up. However, in all cases primary or secondary myopathic changes were evident at the histopathology and/or at the ultrastructural examination. In literature, no breed prevalence have been recorded. In this series, of the 14 foals included in the analysis 1 was a pony and 1 a donkey, the two foals belonging to the Rood and Riddle Equine Hospital were Thoroughbred and two were Warmblood. The remaining (8) foals were Standardbred; it should be considered that horses bred in the geographic area of the study (Campania region) are mainly Standardbred. Anyhow, epidemiologic studies could be useful to

determine the effective prevalence of the disease in different breeds. FD described in this series are mainly congenital and lesion observed at the histopathological examination share many aspects with some slowly- or non- progressive neuromuscular human disorders. These myopathies are considered benign in child (Darin et al., 2002). Prognosis in foals affected by FD is conditioned not only by the severity of the disease and by its etiology, but also by the need for foals to regain the station and suckle colostrum in a short time after birth. Malformation and inability to regain the station might cause a deficiency in uptake of colostrum and failure of the passive immunity (Knottenbelt 2004). Septic complications were the leading cause of death in 2/14 cases. Foals affected by FD should be always deemed critical patients and treated in intensive care unit. In this study, CFDs resulted more frequently affecting multiple joints and forelimbs; they also resulted more frequent bilateral in forelimbs. This is in accordance with what is reported in literature (Finocchio 1973; Wagner et al., 1982; Crowe and Swerczek 1985; Wagner and Waltrous 1990; Whitehair et al.,1992; Embertson 1994; Greet 2000). The joints more frequently affected were carpus, fetlock and interphalangeal joints. Muscle enzyme evaluated were CK, AST and LDH; high serum CK activity

indicates acute muscle degeneration and LDH and AST activity in serum may also indicate muscle necrosis (Valberg 2002). However, the latter two enzymes are not specific for muscle damage, because elevations also occur with liver necrosis; thus, muscle biochemistry profiles should include also ALT, GGT and SDH activities to differentiate between muscle and liver necrosis (Valberg 2002). In some cases significantly increase in CK, LDH, and AST serum activities were recorded. Nevertheless, it is difficult to interpret high muscle enzymatic serum activity in neonatal foals, because this increase may be also related with trauma at parturition (dystocia) and prolonged recumbency (Axon and Palmer 2008; Axon 2011), that could be due either to weakness or to CFDs, which could prevent the foal from standing up for long periods of time. AFD are frequently related to pain. Any pain in the limb will initiate a withdrawal reflex, which results in a flexor muscle contraction and an altered position of the joint (McIlwraight 1987). Furthermore several pathways for the development of AFD were described. Nutritional factors and genetic predisposition are most frequently incriminated. It has been supposed that in rapidly growing foals, the longitudinal growth of the bone may be greater than the potential of the tendon to elongate passively at a



corresponding rate (Auer 2006). In this series, in foal 7 affected by AFD when was 5 months old, no traumatic or painful lesion was reported at the history. It is possible that the disease was present at the birth but the foal showed later the symptoms, as well as it happens in late-onset myopathies. Histopathology was suggestive of a deficit in mitochondrial enzymatic activity and clinical signs of rhabdomyolysis and high activity of serum muscle markers were reported by the referral vet two years later. In human beings mitochondrial myopathies arising from deficiencies in respiratory chain enzymes have been frequently diagnosed (Finsterer 2004; Taylor et al., 2004). Because many metabolic processes take place in the mitochondria, the alteration of adenosine triphosphate production due to diminished activity of the mitochondrial respiratory chain is the causative factor of the majority of these diseases. The respiratory chain is composed of four multi-subunit enzyme complexes encoded by mitochondrial deoxyribonucleic acid (mtDNA) and nuclear DNA. Therefore, mitochondrial diseases may arise from mutations in either mitochondrial or nuclear genomes (Paciello 2006). The changes in mitochondrial DNA sequence can be inherited or created *ex novo* by exogenous factors as certain drugs or oxidative stress (Finsterer 2004). The clinical

features can range from single organ involvement to severe multisystem disease. In mitochondrial disorders, the most severely affected organs are those most dependent on oxidative metabolism, including brain, skeletal, and cardiac muscles, sensory organs, and kidney (Paciello 2006). Histochemical, ultrastructural and biochemical analysis of muscle biopsies is almost always diagnostic (Leonard Lancet 2000). Few cases of mitochondrial diseases have been described in veterinary medicine (Breitschwerdt et al., 1992; Vijayasathay et al., 1994) and specifically in the horse, possibly due to limited testing. A deficit of mitochondrial activity was reported by Meijer and van den Hoven (1990) and a confirmed case of deficiency of Complex I respiratory chain enzyme (NADH Co Q reductase in a 3 years old Arabian filly with extreme exercise intolerance since one year of age was described by Valberg et al. (1994). Unfortunately the owners were not available to deepen the investigation and to repeat the muscle biopsy, to verify if the enzymatic defect was still present. No information were available about the reasons why the other foals affected by congenital MM (5,8) did not race or had poor performances. Studies about long term follow-up and agonistic activity of athletic horses affected by CDF do not exist, even if they could be useful for a better

understanding of the disease. Muscular lesions identified comprise Core like lesions (2), Mitochondrial myopathy (2), Congenital Fiber-Type Disproportion (2), lipomatous dystrophy (1), Lipid Storage Myopathy (1), Inclusion Bodies myopathy (1), Vacuolar myopathy (1), Neurogenic myopathy (1) and unspecific myopathy (5). Deformity completely resolved in cases 2,5,7,8 after different therapies. Resolution of the deformity is reported in a high percentage of affected foals and spontaneous regression is possible as well (Emberson 1994; Trumble 2005; Orsini et al., 1994). For foals 5,7 and 8, even if therapeutic efforts were able to correct the deformity, they were not aimed to treat the underlying problem, thus preventing the horse from reaching best performance. Horse 2 was not used for agonistic purposes and no information are available about her performances. However, spontaneous or easy regression of the deformity, observed in the majority of cases, in absence of other complications, could be due to the non-progressive character of the underlying disease or to the post-natal maturation of muscle and nervous system. Furthermore, soon after birth, flexor tendons and distal check ligament undergo to a further maturation, characterized by the regression of myofibroblasts within deep digital flexor tendon and distal check ligament, which are

considered the target of the oxytetracycline therapy (Hartzel et al., 2001). It was demonstrated that myofibroblasts made up most of the cells in the distal check ligament and in the deep digital flexor tendon of clinically normal foals. These cells have contractile ability and therefore may play a role in CFD (Hartzel et al., 2001). In foal 8 regression of the deformity could be due to the hormonal maturation as well. In foals thyroid hormone concentrations are remarkably high at birth and decrease rapidly during the first few months of life (McLaughlin BG et al 1986). Few papers reports reference values for such hormones (Chen and Riley 1981; Irvine et al., 1975; Irvine 1984). Hormone concentrations recorded in case 8 were lower than normal values reported for foals of the same age. Hypothyroidism in foals might exert his negative effect during intrauterine life; in fact, even if normal equine placenta is quite impermeable to thyroxin, when increased placental permeability occurs, considerable loss of T4 from foal would occur, compromising the high levels of T4 necessary for fetal development (Irvine 1984). Thus, in foals developmental lesions of hypothyroidism are often observed during periods when thyroid hormone concentrations are normal (McLaughlin et al., 1986). Nemaline-like rods should be further evaluated at the ME, for a

conclusive definition. On the other hand in case 11, after a first improvement due to rigid bandages and oxytetracycline administration, clinical signs relapse in the growing filly, probably caused by the persistence of the underlying untreated neurological disease. A diagnosis of Congenital fiber type disproportion was established in cases 2 and 5, and predominance of fibers II is reported in case 8. Congenital Fiber-Type Disproportion (CFTD) is usually characterized by hypotonia and mild-to-severe generalized muscle weakness at birth or within the first year of life (DeChene et al., 2008). Although some individuals remain non-ambulatory throughout life, many eventually develop the ability to walk. In more than 90% of affected individuals, muscle weakness is static or improves; in the remainder it is slowly progressive (DeChene et al., 2008). Contractures of the hips, knees, ankles, elbows, and fingers occur in approximately 25% and are usually present at birth, but may occur in older persons with decreased mobility secondary to severe weakness; spinal deformities are seen in approximately 25% of individuals (DeChene et al., 2008). Diagnosis of congenital fiber-type disproportion (CFTD), a genetically and clinically heterogeneous congenital myopathy, is based on a combination of clinical presentation and morphologic features observed on skeletal

muscle histology. Type 1 fibers that are at least 12% smaller than the mean diameter of type 2A and/or type 2B fibers in the absence of other significant pathologic findings (e.g., many nemaline bodies, cores, or central nuclei). In cases with type 2 fiber hypertrophy, type 1 fibers may have a normal diameter for age (DeChene et al., 2008). Additional findings that may also be present: Type 1 fiber numerical predominance, not to be confused with fiber-type grouping; Decreased presence of 2B/2X fibers; One type of type 2 fibers (2A or 2B/2X) possibly larger than the other(s). Less frequent abnormalities are: central myonuclei, moth-eaten fibers, occasional nemaline rods, intramuscular hemopoiesis, infrequent central cores or multicores, and abnormal accumulation of endomysial adipocytes (DeChene et al., 2008). Ultrastructural findings on electron microscopy (EM) are generally normal; however, fiber size variation may be present. Architectural abnormalities reported in some individuals include: infrequent multimimicores; nemaline bodies; and sub-sarcolemmal sarcomere disarray or glycogen accumulation (DeChene et al., 2008). Pathologic findings may change over time, allowing the refinement of the diagnosis through a second biopsy at a later age. Some individuals with a diagnosis of CFTD on first biopsy were later

found to have different conditions on second biopsies performed as little as one year or as much as 19 years later (DeChene et al., 2008). It was demonstrated that intra uterine growth restriction (IUGR) might interfere with the maturation of both muscle and nervous systems (Rossdale Ousey 1998). The commitment of precursor cells to form myoblast in early embryonic development is followed by their differentiation into myotubes and maturation into mature myofibers. The sequential expression of myosin heavy chain (MyHC) isoforms prenatally can be followed by further transitions between isoforms postnatally (I, IIA, IIB), as a result of changes in nutrition, hormonal status and activity. Myoblast diversity plays a central role in determining fibers type. It was shown that IUGR reduces the formation of secondary myotubes, resulting in a decrease of the total number of myofibers. This response, together with a delay in transition from embryonic/neonatal MyHC to the adult form, would result in muscle weakness at birth. Normal muscle development is dependent on many hormones, including thyroid hormones, growth hormone, insulin-like growth factor, insulin and steroid hormone. The complexity of the intrinsic and extrinsic regulatory mechanisms underlying muscle development and maturation highlights the need

for significantly more investigation on the impact of IUGR on muscle function (Dauncey 1998). It could be speculated that some cases of CFTD demonstrated in the muscle biopsies of contracted foals would be expression of dysmaturity due to IUGR. Cases 1, 3 and 13 are primary myopathy. In case 1 a complete panel of analysis allowed a definite diagnosis and the comparison with similar human myopathy. In human medicine, CCD is a clearly defined clinical condition with striking pathologic changes that facilitate the diagnosis; it is characterized by predominantly central, core-like areas observed with use of oxidative stains. Typically, the cores involve type-1 muscle fibers that predominate, but variable histopathologic pattern and involvement of both type of fibers are described. This entity should be differentiated from other abnormalities in myofibers leading to localized loss of oxidative activity. Little is known about the development of the cores. At this time, there is only weak evidence for a neurogenic origin of CCD. Core- like structures have also been described as a striking feature of a congenital, progressive myopathy of merino sheep, of a myopathy affecting adult Meuse-Rhine- yssel cattle, and of a myopathy in a dog. The case 1 of this series was described in a case report in 2006 (Paciello et al., 2006). In case 3 a Lipid storage



myopathy (LSM) was diagnosed. LSM is pathologically characterized by prominent lipid accumulation in muscle fibers due to lipid dysmetabolism. Although extensive molecular studies have been performed, there are only four types of genetically diagnosable LSMs: primary carnitine deficiency (PCD), multiple acyl-coenzyme A dehydrogenase deficiency (MADD), neutral lipid storage disease with ichthyosis, and neutral lipid storage disease with myopathy. Making an accurate diagnosis, by specific laboratory tests including genetic analyses, is important for LSM as some of the patients are treatable: individuals with PCD show dramatic improvement with high-dose oral L-carnitine supplementation and increasing evidence indicates that MADD due to ETFDH mutations is riboflavin responsive (Liang et al., 2011). In the horse similar genetic tests are not available until now and laboratory test, so as assessing free fatty acid, uric acid, ammonia, lactate, CK, glucose; urinalysis for organic acids, myoglobin, acylcarnitine; enzyme assays of muscle, fibroblast, liver; carnitine assay of muscle and blood are time and money expensive and reserved to research laboratories (Westermann et al., 2007). In case 13 further studies are needed to characterize the specific glycogenosis, with the aim to identify, through DNA analysis a genetic defect of the dam or of the sire. In

cases 4,6,10,12 and 14 histology was suggestive of unspecific congenital myopathy. Moderate variability in fiber size, presence of round, hypertrophic and intensely stained degenerated fibers and multiple necrotic fibers with sarcoclastosis, with absence of changes at the other histoenzimatic profiles, are common in both acquired and congenital myopathies. In cases that showed most severe lesions, immunohistochemical analysis to investigate the presence of dystrophin proteins were performed. Expression of the investigated proteins were normal and it was not possible to differentiate between congenital myopathic lesions and myonecrosis secondary to prolonged recumbency or trauma during distocya. Therefore a final diagnosis of mild unspecific myopathy was made. In case 9 the lipomatous myopathy associated with core like lesions as well shared more features with human dystrophies, but immunohistochemical analysis failed to demonstrate a specific etiology. Lipomatous myopathy is a degenerative muscle pathology characterized by the substitution of muscle cells with adipose tissue, sporadically reported in cattle, pigs, and rarely in sheep, horses and dogs . (Biasibetti et al., 2012). The biopsy of case 9 showed many features in common with similar lesions described in Piedmontese cattle (Biasibetti et al., 2012). In conclusion these case series

confirmed that FD should be regarded as a symptom and it should be endeavored to apply to each clinical case a complete diagnostic *iter*. A definite diagnosis would enable an early prognosis and could identify a potential genetic basis of transmission to offspring. Congenital myopathies were demonstrated in muscle biopsies collected from contracted foals. Both isolated and multiple contractures could be found in neuromuscular disorders, that probably cause reduced foetal movements, responsible for intrauterine malpositioning. Thus the intrauterine malpositioning could be a cause of CFD in case of anomalous position and presentation, i.e, pregnancy of the body or podalic presentation, as in case 11. In this conditions movements of the fetus could be actually limited by the crowded abdomen. On the other hand, in most cases it is supposed that intrauterine malpositioning is the consequence of reduced fetal movements due to a myogenic or neurogenic condition (Banker 2004). In human medicine it was demonstrated that movement of the fetus and muscle and skeletal growth are closely related. Muscular biopsy was a valuable diagnostic mean in foals affected by FD.



Case no.	Sex	Breed	Age	Diagnosis	Symptoms	FD sites	Follow-up
1	M	Pony	10 months	Core like myopathy (CCD)	FD, proximal weakness	Fetlocks & IP joints all 4 limbs	Death
2	F	Warmblood	1 day	Congenital Fiber Type Disproportion (CFTD)	Mild FD	Front fetlocks	Ok
3	M	Standardbred	1 day	Lipid Storage Myopathy	Severe FD, weakness, torticollis, scoliosis	Carpi, fetlocks & IP joints all 4 limbs	Euthanasia
4	M	Standardbred	15 days	Mild unspecific myopathy	FD, weakness, patent urachus, septicemia	Carpi, front fetlocks	Death
5	F	Standardbred	1 day	Mitochondrial Myopathy (MM) & CFTD	FD, more severe front limbs than hind limbs	Fetlocks & IP joints all 4 limbs	Ok
6	M	Standardbred	8 days	Mild unspecific myopathy	FD, patent urachus, septicemia	Carpi & fetlocks front limbs	Death
7	M	Standardbred	7 months	MM	FD, more severe right front limb	Fetlocks & IP joints front limbs	Distal check desmotomy, Ok
8	M	Standardbred	1 day	Nemaline-like rods myopathy	FD, weakness, mandibular prognathism	Carpi & fetlocks front limbs	Ok
9	M	Donkey	12 months	Lipomatous muscle “dystrophy” & CCD	FD, congenital bilateral lateral patellar luxation	Fetlocks & IP joints all 4 limbs	Euthanasia
10	M	Standardbred	0 days	Mild unspecific myopathy	FD	Carpi & fetlocks front limbs	Stillbirth
11	F	Warmblood	10 days	Neurogenic myopathy	FD, entropion inferior right eyelid	Fetlocks	Relapse after 4 months
11bis	F	Warmblood	5 months	Neurogenic myopathy	FD	IP joints	Distal check desmotomy – euthanasia (femoral fracture)
12	F	Standardbred	0 days	Mild unspecific myopathy	FD	Carpi & fetlocks front limbs	Podalic delivery, stillbirth
13	F	Thoroughbred	0 days	Vacuolar myopathy	FD, weakness	Carpi & fetlocks front limbs	Dystocia (assisted vaginal delivery) – death
14	M	Thoroughbred	0 days	Mild unspecific myopathy	FD	Carpi & fetlocks front limbs	Stillbirth

Tab1: History, clinical presentation, diagnosis and follow up of the foals. Ccd: core like disease. CFTD: congenital fiber type Disproportion. MM: Mitochondrial

myopathy. *Ip*: *intephalangeal joint*

## **BIBLIOGRAFIA**

Abd-Elnaeim M.M.M., Leiser R., Wilsher S., Allen W.R. (2006) “Structural and haemovascular aspects of placental growth throughout gestation in young and aged mares”, *Placenta* 27: 1103-13.

Adams S.B., Lescun T.B. (2011) “Flexural deformities”, In: *Equine Reproduction*, 2nd edition, McKinnon A.O., Squires E.L., Vaala W.E., Varner D.D. Eds., Blackwell publishing, Ames, USA, pp. 441-5.

Aleman M. A review of Equine muscle disorders Neuromuscular Disorders (2008), 18, 277–287

Allen A.L., Townsend H.G.G., Doige C.E., Fretz P.B. (1996) “A case-control study of the congenital hypothyroidism and dysmaturity syndrome of foals”, *Can. Vet. J.* 37: 349-58.

Amack JD, Mahadevan MS, 2004, Myogenic defects in myotonic dystrophy, *Dev Biol*, 265(2):294-301.

Attali R., Warwar N., Israel A., Gurt I., McNally E., Puckelwartz M., Glick B., Nevo Y., Ben-Neriah Z., Melki J. (2009) “Mutation of *SYNE-1*, encoding an essential component of the nuclear lamina, is responsible for autosomal recessive arthrogyrosis”, *Human Molecular Genetics* 18(18): 3462-9.

Auer J.A. (2006) “Flexural limb deformities”, In: *Equine Surgery*, 3rd edition, Auer J.A. Ed., Saunders Elsevier, St. Louis, USA, pp. 1150-65.

Axon J.E. (2011) “Critical care – assessment”, In: *Equine Reproduction*, 2nd edition, McKinnon A.O., Squires E.L., Vaala W.E., Varner D.D. Eds., Blackwell publishing, Ames, USA, pp. 167-76.

Axon J.E., Palmer J.E. (2008) “Clinical pathology of the foal”, *Vet Clin North Am Equine Pract* 24(2): 357-85.

Banker B.Q. (2004) “Congenital deformities”. In: Engel A.G., Franzini-Armstrong C., Eds., *Myology*, 3<sup>rd</sup> edition, McGraw-Hill Medical Publishing Division pp1931.

Bassett DI, Currie PD, 2003, The Zebrafish as a model for muscular dystrophy and congenital myopathy, *Human Molecular Genetics*(12): R265-R270.

Bates GP, Hay DG, 2004, Mouse models of triplet repeat diseases, *Methods Mol Biol*, 277:3-15

Bharucha E.P., Pandya S.S., Dastur D.K. (1972) “Arthrogryposis multiplex congenital– Part 1: clinical and electromyographic aspects”, *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* 35: 425-34.

Biasibetti E, Amedeo S, Brugiapaglia A, Destefanis G, Di Stasio L, Valenza F, Capucchio MT. (2012) “Lipomatus muscular “dystrophy” of piedmontese cattle” 6(11):1839-47

Bouen L.C., Zhang T.Q., Weber A.F., Turner T., Bellamy J., Ruth G. (1997) “Arthrogryposis in the foal and its possible relation to autosomal trisomy”, *Equine vet. J.* 29(1): 60-2.

Boyd J.S. (1976) “Congenital deformities in two Clydesdale foals”, *Equine vet. J.* 8(4): 161-4.

Braund K.G., Dillon A.R., August J.R., Ganjam V.K. (1981) “Hypothyroid myopathy in two dogs”, *Vet Pathol* 18(5): 589-98.

Braund K.G. (2003) “Myopathic disorders”, In: *Clinical neurology in small animals– localization, diagnosis and treatment. International veterinary information service*, Braund K.G. Ed., New York, USA, [www.ivis.org/special\\_books/Braund/braund20a/ivis.pdf](http://www.ivis.org/special_books/Braund/braund20a/ivis.pdf).

Breitschwerdt EB, Kornegay JN, Wheeler SJ, Stenens JB, Baty CJ: Episodic weakness associated with exertional lactic acidosis and myopathy in Old English sheepdog littermates. *J Am Vet Med Assoc* 201(5):731–736, 1992

Brown L.M., Robson M.J., Sharrard W.J.W. (1980) “The pathophysiology of arthrogryposis multiplex congenita neurologica”, *J. of Bone and Joint Surgery* 62-B(3): 291-6.

Bruni A.C., Zimmerl U. (1947) “Anatomia e meccanica speciale dei muscoli (miologia)”, In: *Anatomia degli Animali Domestici vol. I*, Dottor Francesco Vallardi, Milano, Italia, pp. 345-56.

Byron C.R., Embertson R.M., Bernard W.V., Hance S.R., Bramlage L.R., Hopper S.A. (2002) “Dystocia in a referral hospital setting: approach and results”, *Equine vet. J.* 35(1): 82-5.

Carpenter R.S., Galuppo L.D., Simpson E.L., Dowd J.P. (2008) “Clinical evaluation of the locking compression plate for fetlock arthrodesis in six Thoroughbred racehorses”, *Vet Surg* 37: 263-8.

Charman R.E., Vasey J.R. (2008) “Surgical treatment of carpal flexural deformity in horses”, *Australian Vet J* 86(5): 195-9.

Cheli R. (1977) “Lesioni del carpo”, “Lesioni del nodello”, “Lesioni del dito”, In: *Clinica Chirurgica Veterinaria vol. II*, UTET, Torino, Italia, pp. 1056-9, 1345-7, 1371-2.

Crowe M.W., Swerczek T.W. (1985) “Equine congenital defects”, *Am J Vet Res* 46(2): 353-8.

Darin N., Kimber E., Kroksmark A.K., Tulinius M. (2002) “Multiple congenital contractures: birth prevalence, etiology, and outcome”, *J. of Pediatrics* 140(1): 61-7.

Dastur D.K., Razzak Z.A., Bharucha E.P. (1972) “Arthrogryposis multiplex congenital – Part 2: muscle pathology and pathogenesis”, *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* 35: 435-50.



Dauncey M.J. (1998) "Potential impact of intrauterine growth retardation on muscle function: a cellular and molecular analysis", *Equine vet. J.* 30: 460-1.

Dietz F.R., Cole W.G., Tosi L.L., Carroll N.C., Wemer R.D., Comstock D., Murray J.C. (2005) "A search for the gene(s) predisposing to idiopathic clubfoot", *Clin Genet* 67: 361-2.

Dubowitz V, report non pubblicato basato sui dati pubblicati in *Neuromuscular Disorders*: 1994, 4 (1): 75-81; 1995, 5(3): 253-258; 1996, 6(4): 295-301.

Elliott C., Morton J., Chopin J. (2009) "Factors affecting foal birth weight in Thoroughbred horses", *Thriogenology* 71: 683-9.

Embertson R.M. (1994) "Congenital abnormalities of tendons and ligaments", *Vet Clin North Am Equine* 10(2): 351-64.

Engel A.G , Franzini Armstrong C., *Myology*, 3rd edition, 1994, 1931-1960

Fackelman G.E., Clodius L. (1972) "Surgical correction of the digital hyperextension deformity in foals", *Vet Med Small Anim Clin* 67: 1116-23.

Fackelman G.E., Auer J.A., Orsini J., von Salis B. (1983) "Surgical treatment of severe flexural deformity of the distal interphalangeal joint in young horses", *JAVMA* 182(9): 949-52.

Fassier A., Wicart P., Dubousset J., Seringe R. (2009) "Arthrogryposis multiplex congenital. Long-term follow-up from birth until skeletal maturity", *J Child Orthop* 3: 383-90.

Faulks S., Luther B. (2005) "Changing paradigm for the treatment of clubfeet", *Orthopaedic Nursing* 24(1): 25-30.

Finocchio E.J. (1973) "A case of contracted foal syndrome", *Vet Med* 68: 1254-5.

Giles R. (1993) "Contracted foal syndrome: a common congenital defect", *Equine Disease Quarterly* 1(2).

Goedegebuure SA, Hartman W, Hoebe HP: Dystrophy of the diaphragmatic muscles in adult Meuse-Rhine-Yssel cattle: electromyographical and histological findings. *Vet Pathol* 20:32-48, 1983.

Greet T.R.C. (2000) "Managing flexural and angular limb deformities: the Newmarket perspective", *Proceedings AAEP* 46: 130-6.

Gyrd-Hansen N. (1980) "The effect of tetracyclines on the rabbit heart", *Zentralbl Veterinarmed A.* 27(3): 228-37.

Han V.K. (1993) "Pathophysiology, cellular and molecular mechanisms of foetal growth retardation", *Equine Vet J Suppl* 14: 12-6.

Hartzel D.K., Arnoczky S.P., Kilfoyle S.J., Stick J.A. (2001) "Myofibroblast in the accessory ligament (distal check ligament) and the deep digital flexor tendon of foals", *Am J Vet Res* 62(6): 823-7.

Hegreberg G.A., Reed S.M. (1990) "Skeletal muscle changes associated with equine myotonic dystrophy", *Acta Neuropath.* 80(4): 426-31.

Holdtock NB, Ousey JC, Rosedale PD (1998) "Glomerular filtration rate, effective renal plasma flow, blood pressure and pulse rate in the equine neonate during the first 10 days post partum" *Equine vet J Jul*; 30 (4): 335-43

Holland C.T. (2005) "Carpal hyperflexion in a growing dog following neural injury to the distal brachium", *J Small Anim Pract* 46: 22-6.

Hulland TJ (1993) Muscle and tendon. In: *Pathology of domestic animals*, KVF Jubb, PC Kennedy, N Palmer, pgg 183-265, San Diego(California): Academic Press Inc.

Jacobson L., Polizzi A., Morriss-Kay G., Vincent A. (1999) "Plasma from human mothers of fetuses with severe arthrogryposis multipla congenital causes deformities in mice", *J. Clin. Invest.* 103: 1031-8.

Kidd J.A., Barr A.R.S. (2002) "Flexural deformities in foals", *Equine vet. Educ.* 14(6): 311-21.

Knottenbelt D.C., Holdstock N., Madigan J.E. (2004) "Flexural deformities", In: *Equine Neonatology Medicine and Surgery*,

Knottenbelt D.C., Holdstock N., Madigan J.E. Eds., Saunders, Edinburgh, UK, pp. 291-6.

Knottenbelt DC, Holdstock N, Madigan JE, *Equine Neonatology*, Saunders, 2004.

Lear T.L., Bailey E. (2008) "Genetics of contracted foal syndrome", *Equine Disease Quarterly* October 05 2008, Article # 12834.

Irvine CHG, Evans MJ. (1975) "Postnatal changes in total and free thyroxine and triiodothyronine in foal serum." *J. Reprod. Fert., Suppl.* 23: 709-15.

Irvine CHG. (1984) "Hypothyroidism in the foal." *Equine vet. J.* 16: 302-6.

Lear T.L. (2011) "Congenital flexural limb deformities in foals", *Bleugrass Equine Digest* August 2011: 10-2.

Leitch M. (1985) "Musculoskeletal disorders in neonatal foals", *Vet Clin North Am Equine Pract* 1(1), 189-207.

Lokai M.D., Meyer R.J. (1985) "Preliminary observations on oxytetracycline treatment of congenital flexural deformities in foals", *Mod Vet Pract* 66: 237-9.

Liang WC, Nishino I *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2011 Feb;11(1):97-103. doi: 10.1007/s11910-010-0154-y. Lipid storage myopathy.

Lollini PL, DeGiovanni C, Nanni P, 2001, *Terapia genica*, Bologna: ed.Zanichelli.

Magdesian K.G. (2003) "Neonatal pharmacology and therapeutics", In: *Current Therapy in Equine Medicine*, 5th edition, Robinson N.E., Sprayberry K.A. Eds., Saunders Elsevier, St. Louis, USA, pp. 1-5.

Manzur AY, Sewry CA, Ziprin J, Dubowitz V, Muntoni F: A severe clinical and pathological variant of central core disease with possible autosomal recessive inheritance. *Neuromuscul Disord* 8: 467–473, 1998

Marcato PS, Rosmini R, Bazzo R, 2002. Sistema locomotore: muscoli. In *Patologia sistematica veterinaria*, Marcato PS, pg 1095-1196. Bologna: ed.Edagricole.

Mayhew L.G. (1984) "Neuromuscular arthrogryposis multiplex congenital in a Thoroughbred foal", *Vet. Pathol.* 21: 187-92.

McGavin MD Baynes I (1969) A congenital progressive ovine muscular dystrophy. *Vet Pathol* 6: 513–24.

McGavin MD, Valentine BA, 2001, Muscle. In *Thomsons special veterinary pathology*, McGavin MD, Carlton WW, Zachary F, pgg 461-478, Saint Louis (Missouri): ed. Mosby.

McIlwraith C.W., James L.F. (1982) "Limb deformities in foals associated with ingestion of locoweed by mares", *JAVMA* 181(3): 255-8.

McIlwraith C.W. (1987) "Diseases and problems of tendons, ligaments, and tendon sheaths", In: *Adams' Lameness in Horses*, 4th edition, Ted S. Stashack Ed., Lea & Febiger, Philadelphia, USA, pp. 447-81.

McLaughlin B.G., Doige C.E. (1981) "Congenital musculoskeletal lesions and hyperplastic goiter in foals", *Can. vet. J.* 22: 130-3.

McLaughlin B.G., Doige C.E., McLaughlin P.S. (1986) "Thyroid hormone levels in foals with congenital musculoskeletal lesions", *Can. vet. J.* 27: 264-7.

Meijer A.E.F.H., van den Hoven R. (1990) "Histochemische und Biochemische Änderungen in Skelettmuskeln von rhabdomyolyseempfindlichen Trabrennpferden nach Grenzbelastung: III: Vermehrte Aktivität einiger antioxidanter Enzyme". *Ricerca originale Articolo*. *Acta Histochemica* 89(1): 113-119.

Montagna P, Liguori R, Monari L, et al, 2001, Equine muscular myotonia. *Clinical Neurophysiology* 112: 294-299.

Moorthi R.N., Hashmi S.S., Langois P., Canfield M., Waller D.K., Hecht J.T. (2005) "Idiopathic talipes equinovarus (ITEV) (clubfeet) in Texas", *Am. J. Medical Genetics* 132A: 376-80.

Newsholme SJ, Gaskell CJ (1987) Myopathy with core-like structures in a dog. *J Comp Pathol* 97: 597-600.

Nes, N., Lømo, O.M., Bjerkås I. (1982) "Hereditary lethal arthrogryposis ("muscle contracture") in horses", *Nord Vet Med* 34(12), 425-30.

Nollet H., Deprez P. (2005) "Hereditary skeletal muscle diseases in the horse. A review." *Vet Q*; 27(2): 65-75.

Orsini, J.A., Kreuder C. (1994) "Musculoskeletal disorders of the neonate". *Vet Clin North Am Equine Pract* 10, 137-66.

Paciello O., Pasolini M.P., Navas L., Russo V., Papparella S. (2006) "Myopathy with central cores in a foal". *Vet. Pathol.* 43: 579-83.

Pasolini M.P., Auletta L., Trapani F., Papparella S., Lamagna F., Paciello O. (2010) "Muscle biopsy in the diagnosis of flexural deformities (FD) in foals" *Proceedings of the International Congress on Neuromuscular Diseases*, Naples, Italy – July 17th-22nd, 2010, in *Acta Myologica XXIX*: 101.

Petazzoni M., Mortellaro C.M. (2000) "Sindrome iperflessoria del carpo in un cucciolo di Dalmata: segnalazione di un caso clinico e revisione della letteratura", *Veterinaria* 14(2): 33-40.

Prichard J.T., Voss J.L. (1967) "Fetal ankylosis in horses associated with hybrid Sudan pasture", *JAVMA* 50(8): 871-3.

Phylactou LA, 2004, Repair of myotonic dystrophy protein kinase (DMPK) transcripts by trans-splicing ribozymes, *Methods Mol Biol*, 252:373-83.

Reece WO, 1993, Blood, circulation and cardiovascular system, in *Dukes physiology of domestic animals*, Swenson MJ, Reece WO, pg 01-262, Ithaca: Cornell University Press

Reed S.M., Hegreberg G.A., Bayly W.A., Brown C.M., Paradis M.R., Clemmons R.M. (1988) "Progressive myotonia in foals resembling human dystrophia myotonica", *Muscle & Nerve* 11(4), 291-6.

Reed S.M., Bayly W.M., Sellon D.C. (2004) in *(Equine Internal Medicine)* Saunders Elsevier (USA) 476

Render JA, Common RS, Kennedy FA, Jones MZ, Fyfe JC: Amylopectinosis in Fetal and Neonatal Quarter Horses. *Vet Pathos* 1999 36:157-160

Riemersma S., Vincent A., Beeson D., Newland C., Hawke S., Vernet-der Garabedian B., Eymard B., Newsom-Davis J. (1996) "Association of arthrogryposis multiplex congenital with maternal antibodies inhibiting fetal acetylcholine receptor function", *J. Clin. Invest.* 98(10): 2358-63.

Rooney J.R. (1966) "Contracted foals", *Cornell Vet.* 172-86.

Rosenmann A., Arad I. (1974) "Arthrogryposis multiplex congenital: neurogenic type with autosomal recessive inheritance", *Journal of Medical Genetics* 11: 91-4.

Sarli G, Della Salda L, Marcato PS, 1994, Dystrophy-like myopathy in a foal, *The veterinary record* 135: 156-160.

Scott K.R., Simmons Z., Boyer P.J. (2002) "Hypothyroid myopathy with a strikingly elevated serum creatine kinase level", *Muscle & Nerve* 26: 141-4.

Sewry CA, Muller C, Davis M, Dwyer JS, Dove J, Evans G, Schroder R, Furst D, Helliwell T, Laing N, Quinlivan RC: The spectrum of pathology in central core disease. *Neuromuscul Disord* 12:930–938, 2002

Sharma M. C., Jain D., Sarkar C., Goebel H.H. (2009) "Congenital myopathies – a comprehensive update of recent advancements", *Acta Neurologica Scandinavica* 119(5): 281–92.

Sheldon W. (1932) "Amyoplasia Congenita", *Archives of Disease in Childhood* VII: 117-36.

Shohat M., Lotan R., Magal N., Shohat T., Fischel-Ghodsian N., Rotter J.I., Jaber L. (1997) "A gene for arthrogryposis multiplex congenital neuropathic type is linked to D5S394 on chromosome 5qter", *Am. J. Hum. Genet.* 61: 1139-43.

Sponseller, BT, Valberg, SJ, Ward, T, Williams, AJ, Mickelson, JR Muscular weakness and recumbency in a Quarter Horse colt due to glycogen branching enzyme deficiency. *Equine Vet Ed* (2003) 15: 182-188

Trout D.R., Lohse C.L. "Anatomy and therapeutic resection of the peroneus tertius muscle in a foal", *JAVMA* 179(3): 247-51.

Trumble T.N. (2005) "Orthopedic disorders in neonatal foals", *Vet Clin North Am Equine Pract* 21: 357-85.

Turner A.S., McIlwraith C.W. (1989) "Superficial digital flexor tenotomy", In: *Techniques in Large Animal Surgery*, 2nd edition,

Turner A.S., McIlwraith C.W. Eds., Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, USA, pp. 150-2.

USDA (2007) "Horses and Ponies – Inventory and Number sold 2007 and 2002", *2007 Census of Agriculture* table 15;  
[http://www.kentuckyhorse.org/attachments/wysiwyg/36/st21\\_2\\_015\\_015.pdf](http://www.kentuckyhorse.org/attachments/wysiwyg/36/st21_2_015_015.pdf)  
[http://www.kentuckyhorse.org/attachments/wysiwyg/5/Non\\_Race\\_KY\\_Horses.pdf](http://www.kentuckyhorse.org/attachments/wysiwyg/5/Non_Race_KY_Horses.pdf) .

Valberg S. J. (2002) "A review of the diagnosis and treatment of rhabdomyolysis in foals", *Proceedings of the Annual Convention of the AAEP*, pp. 117-21.



Valberg S.J., Carlson G.P., Cardinet Jr G.H., Birks E.K., Jones J.H., Chomyn A. and DiMauro S., Skeletal muscle mitochondrial myopathy as a cause of exercise intolerance in a horse, *Muscle Nerve* (1994)17, 305–312.

Valberg SJ, MacLeath JM Mickelson JR. Exertional rhabdomyolysis and polysaccharide storage myopathy in horses. *Compendium on continuing education for the practicing veterinarian* 1997; 19: 1077-1085.

Valberg SJ, Mickelson JR, Gallant EM, MacLeavy JM, Lentz L, Corte F. Exertional rhabdomyolysis in quarter horses and Thoroughbreds: one syndrome, multiple aetiologies. *Equine veterinary journal, supplement* 1999; 30: 533-538.

Valberg SJ, Townsend D Mickelson JR. Skeletal muscle glycolytic capacity and phosphofructokinase regulation in horses with polysaccharide storage myopathy. *American journal of veterinary research* 1998; 59: 782-785.

Valberg, SJ, Ward, TL, Rush, B, Kinde, H, Hilaragi, H et al. Glycogen branching enzyme deficiency in Quarter Horse foals. *J Vet Intern Med* (2001) 15: 572-580.

Vandeplassche M.M. (1987) “The pathogenesis of dystocia and fetal malformation in the horse”, *J Reprod Fert Suppl* 35: 547-52

.

Vasta I., Kinali M., Messina S., Guzzetta A., Kapellou O., Manzur A., Cowan F., Muntoni F., Mercuri E. (2005) “Can clinical signs identify newborns with neuromuscular disorders?”, *J. Pediatr* 146: 73-9.

Vaughan L.C. (1992) “Flexural deformity of the carpus in puppies”, *Journal Small Anim Pract* 33: 381-4.

Vijayasarathy C, Giger U, Prociuk U, Patterson DF, Breitschwerdt EB, Avadhani NG: Canine mitochondrial myopathy associated with reduced mitochondrial mRNA and altered cytochrome c oxidase activities in fibroblasts and skeletal muscle. *Comp Biochem Physiol A Physiol* 106(4):887–894, 1994

Wagner P.C., Reed S.M., Hegreberg G.A. (1982) “Contracted tendons (flexural deformities) in the young horse”, *Compendium Continuing Education* 4(3): 101-10.

Wagner P.C., Shires G.M.H., Watrous B.J., Kaneps A.J., Schmotzer W.B., Riebold T.W. (1985a) “Management of acquired flexural deformity of the metacarpophalangeal joint in Equidae”, *JAVMA* 187(9): 915-8.

Wagner P.C., Grant B.D., Kaneps A.J., Watrous B.J. (1985b) “Long term results of desmotomy of the accessory ligament of the deep digital flexor tendon (distal check ligament) in horses”, *JAVMA* 187(12): 1351-3.

Wagner P.C., Waltrous B.J. (1990) “Equine pediatric orthopedics: part 2 – Flexural limb deformities (tendon contractures)”, *Equine Practice* 12(5): 27-33.

Westermann CM., Dorland L., Wiinberg ID., Van Der Kolk JH., *veterinary Quarterly* 2007; 29(2): 42-59)

Whitehair K.J., Adams S.B., Toombs J.P., Parker J.E., Prostedny J.M., Whitehair J.G., Aiken S.W. (1992) “Arthrodesis for congenital flexural deformity of the metacarpophalangeal and metatarsophalangeal joints”, *Vet Surg* 21(3): 228-33.

Wilsher S., Allen W.R. (2003) “The effects of maternal age and parity on placental and fetal development in the mare”, *Equine vet. J.* 35(5): 476-83.

Wilson D.G., Miyabayashi T., Schenkman D.I. (1990) “Multiple congenital skeletal deformities in an Arabian foal”, *Can Vet J* 31: 113-5.

Wyn-Jones G., Peremans K.Y., May S.A. (1985) “Case of quadrilateral flexural contracture in a 10-year-old pony”, *Vet Rec* 116: 685-7.

Yanowitz JL, Shakir MA, Hedgecock E, Hutter H, Fire AZ, Lundquist EA., 2004, UNC-39, the *C. elegans* homolog of the human myotonic dystrophy-associated homeodomain