

**UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI NAPOLI
FEDERICO II
FACOLTA' DI MEDICINA VETERINARIA**

Dipartimento di Scienze Cliniche Veterinarie

Sezione di Clinica Chirurgica



**DOTTORATO DI RICERCA IN SCIENZE CLINICHE E FARMACO -
TOSSICOLOGICHE VETERINARIE**

**INCIDENZA E FATTORI DI RISCHIO DELLA
RABDOMIOLISI IN CAVALLI TROTTATORI
ITALIANI IN ATTIVITA' AGONISTICA**

Il Coordinatore del Corso di Dottorato
Ch.mo Prof. Angelo Persechino

Il Docente guida:

Ch.mo Prof. M.P. Pasolini

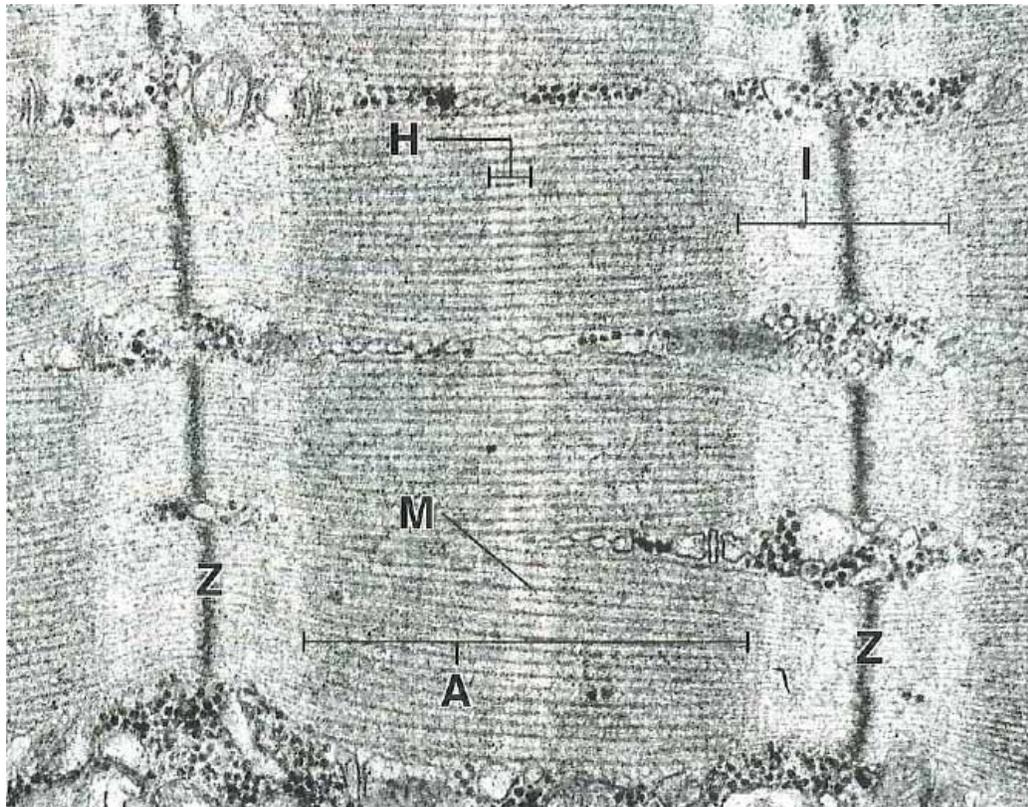
Dottorando:

Dr. Michele Greco

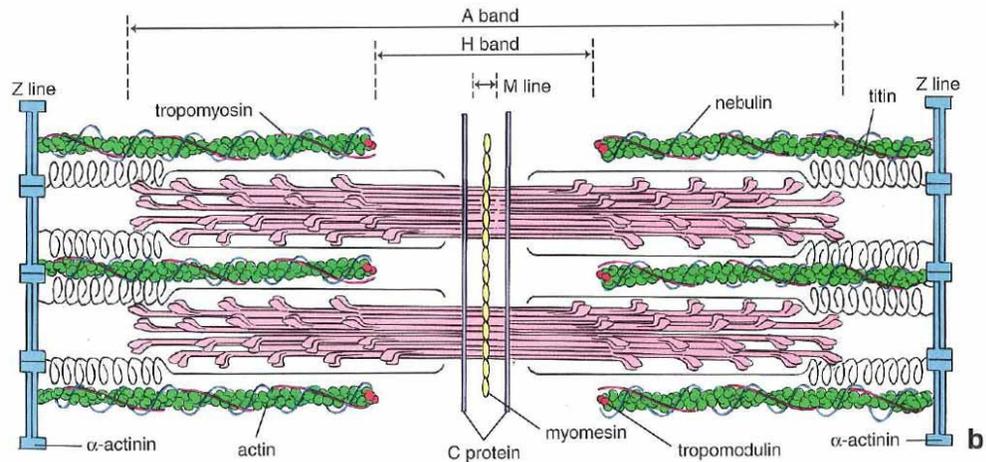
DOTTORATO DI RICERCA XX CICLO
2004 – 2007

delimitate da una membrana, detta sarcolemma, che racchiude la massa citoplasmatica, detta sarcoplasma. Il sarcolemma è costituito da un'esile membrana basale e dalla membrana plasmatica; al di sotto di quest'ultima si ritrovano i numerosi nuclei di cui la cellula è fornita. È stata dimostrata, inoltre, la presenza di nuclei appartenenti a cellule differenti dalla miofibrilla, ma strettamente addossate ad essa, tanto che la membrana propria di queste cellule risulta difficilmente distinguibile da quella principale. Queste cellule sono state interpretate come mioblasti quiescenti che conferiscono alla miofibrilla capacità rigenerativa. I mitocondri si trovano disposti al di sotto del sarcolemma con asse maggior parallelo a quello della fibra e si concentrano maggiormente nelle porzioni cellulari coinvolte attivamente nello scambio di ioni. Ogni miofibrilla contiene, inoltre, aggregati di glicogeno e mioglobina. Il glicogeno è distribuito in granuli, con concentrazioni diverse a seconda del tipo di muscolo e del suo stato di nutrizione, mentre la mioglobina è una proteina, contenente il gruppo eme, deputata al trasporto dell'ossigeno intracellulare. Ogni fibra muscolare contiene numerose miofibrille, ognuna del diametro di 1-3 μm e circondata dalla membrana del reticolo sarcoplasmatico (SR). Le miofibrille, dall'aspetto striato, sono organizzate in "blocchi" che si susseguono lungo l'asse maggiore della fibra muscolare conferendole, così, il caratteristico aspetto striato. I "blocchi" di miofibrille si ripetono con una periodicità di circa 2-3 μm , caratterizzando l'unità contrattile del muscolo striato denominata *sarcomero*. La struttura del sarcomero è definita, in base all'aspetto che esso assume al microscopio, in bande parallele. Ogni estremità è limitata da una banda scura, sottile ($\sim 0,1 \mu m$) denominata banda Z. Ogni banda Z divide in due metà la banda I che, di dimensioni maggiori (1 μm) e di colore più chiaro, è condivisa tra due sarcomeri adiacenti. Il centro del sarcomero è delineato da una banda A spessa (1,6 μm) e scura, a sua volta divisa da una più chiara banda H.

Al centro di quest'ultima si può evidenziare una sottile banda più chiara, definita come banda M



L'aspetto delle bande è giustificato dalla diversa posizione dei filamenti contrattili all'interno della miofibrilla. La banda A contiene uno spesso miofilamento disposto in senso longitudinale della lunghezza di circa $1,6 \mu m$; la banda I, invece, è formata da miofilamenti più corti e sottili che, dalla loro inserzione alla linea Z, si portano, compenetrandola, fino alla banda A. La minore densità della banda H è giustificata dalla mancanza della sovrapposizione dei filamenti presenti nella banda A con quelli provenienti dalla banda I.

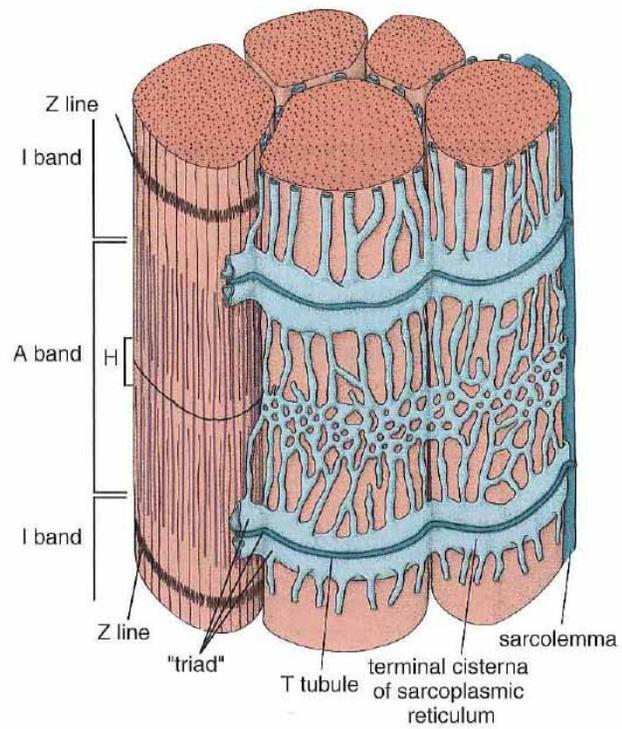


I due diversi tipi di miofilamenti sono costituiti, entrambi, da polimeri proteici. Gli spessi filamenti che costituiscono la banda A sono costituiti, principalmente, da miosina mentre i filamenti più sottili della banda I sono costituiti principalmente da actina. Le due molecole, insieme, costituiscono circa il 70% delle proteine costituenti le miofibrille; altre proteine non miosiniche (come le proteine C, X, M e H, l'AMP deaminasi, la creatin-kinasi e la miomesina) sono presenti all'interno dei filamenti della banda A, e proteine come la tropomiosina e la troponina nei filamenti della banda I. Una proteina di grosse dimensioni, la titina, si estende dalla banda I alla banda Z. La banda Z, invece, è costituita principalmente da α -actinina.

I filamenti miosinici contengono, come già accennato, anche proteine non miosiniche la cui funzione, però, non è stata ancora chiarita. La principale di queste proteine è la proteina C: questa si lega con forti legami covalenti a specifici siti dei filamenti di miosina e sembra avere principalmente un ruolo strutturale.

Il reticolo sarcoplasmatico (SR), costituito da reticolo endoplasmatico liscio, presenta una peculiare struttura nelle miofibre. Esso è formato da una fitta rete di tubuli anastomotizzati tra loro soprattutto a livello della banda H, che confluiscono in cisterne, ad andamento longitudinale alla fibra, localizzate, nei mammiferi, a cavallo delle bande A ed I. A questo livello, si ritrovano delle invaginazioni della membrana

plasmatica, a fondo cieco, dette tubuli T. L'insieme delle due cisterne e del tubulo T associato prende il nome di triade sarcoplasmatica.



Classificazione fibre muscolari

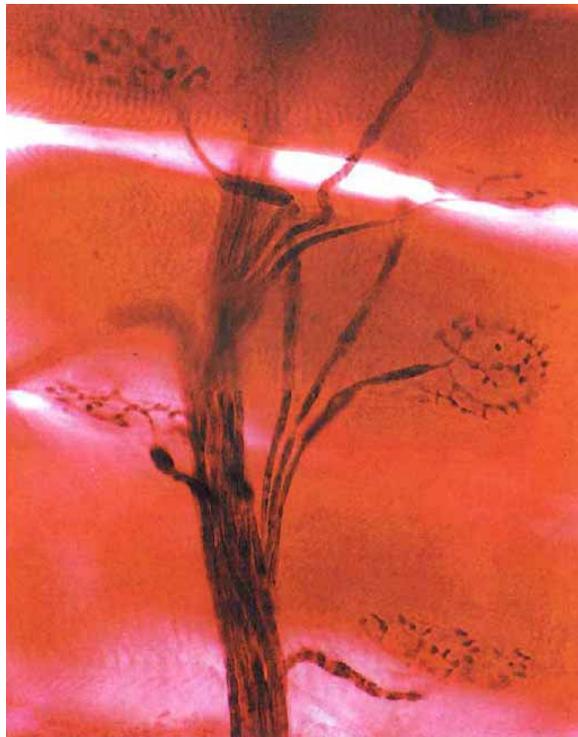
Se osservati al microscopio ottico, i muscoli scheletrici sembrano omogenei nella loro struttura; tuttavia, il tessuto muscolare è composto da diversi tipi di fibre con caratteristiche differenti tra loro. Le miofibre sono state raggruppate in due diverse categorie: quelle appartenenti al tipo I e quelle appartenenti al tipo II. Questa classificazione, però, adottata durante i primi studi, si è rivelata, col tempo, piuttosto grossolana e, man mano che sono aumentate le conoscenze, sono stati individuati diversi tipi fibrili che posseggono caratteristiche intermedie tra i due gruppi. La differenza principale tra i diversi tipi di fibre muscolari è data dalla diversa composizione e natura delle proteine che le compongono. Sono state identificate, infatti, diverse isoforme per ogni proteina che compone il meccanismo contrattile. Inoltre, ogni miocita ha una diversa capacità di riassorbimento del calcio. Le fibre di tipo I hanno un'alta capacità ossidativa e, perciò, necessitano di notevoli quantitativi di glucosio, acidi grassi liberi ed ossigeno per la contrazione. Il loro reticolo sarcoplasmico, inoltre, ha una capacità di riassorbimento del calcio piuttosto bassa. Ne deriva che le fibre tipo I sono deputate alla contrazione lenta, ma di più lunga durata. Queste fibre si ritrovano, infatti, soprattutto nei muscoli posturali. Le fibre tipo II, invece, di diametro maggiore rispetto alle fibre tipo I, hanno un'attività ATPasica maggiore ed una velocità di riassorbimento del calcio più elevata delle fibre tipo I. Le fibre tipo II sono deputate ai movimenti veloci e potenti. Questo tipo fibrile è maggiormente rappresentato nei muscoli scheletrici deputati alla locomozione ed ai movimenti fini come i muscoli oculari. Le fibre appartenenti al tipo II che, però, hanno un'attività affine a quelle di tipo I, sono state classificate come IIa, mentre quelle con capacità di glicolisi anaerobica maggiore come IIb. Le fibre dei muscoli scheletrici possono essere divise, istologicamente, sulla base della loro

capacità ATPasica. A PH 9,4 è possibile distinguere le fibre di tipo I da quelle di tipo II mentre a PH più bassi (4,5-4,3 a seconda dei laboratori) le fibre di tipo II possono essere distinte in quelle di tipo IIa, IIb e persino IIc.

La composizione e i tipi di fibre presenti in ciascun muscolo, però, non cambiano solo a seconda del muscolo scelto e della funzione primaria a cui esso è deputato, ma anche del sito di prelievo e della profondità a cui viene fatto il prelievo dato che la distribuzione delle fibre in ciascun muscolo non è omogenea. Secondo alcuni autori, la distribuzione delle fibre può cambiare anche in relazione al grado di allenamento, ma questa conclusione non è condivisa universalmente. È, invece, accettato che l'allenamento possa determinare un aumento delle capacità ossidative delle fibre, una diminuzione dell'utilizzo di glicogeno e glucosio come substrati energetici ed un relativo aumento dell'utilizzo dei grassi e, di conseguenza una diminuzione della produzione di acido lattico (MacLeay, 2004).

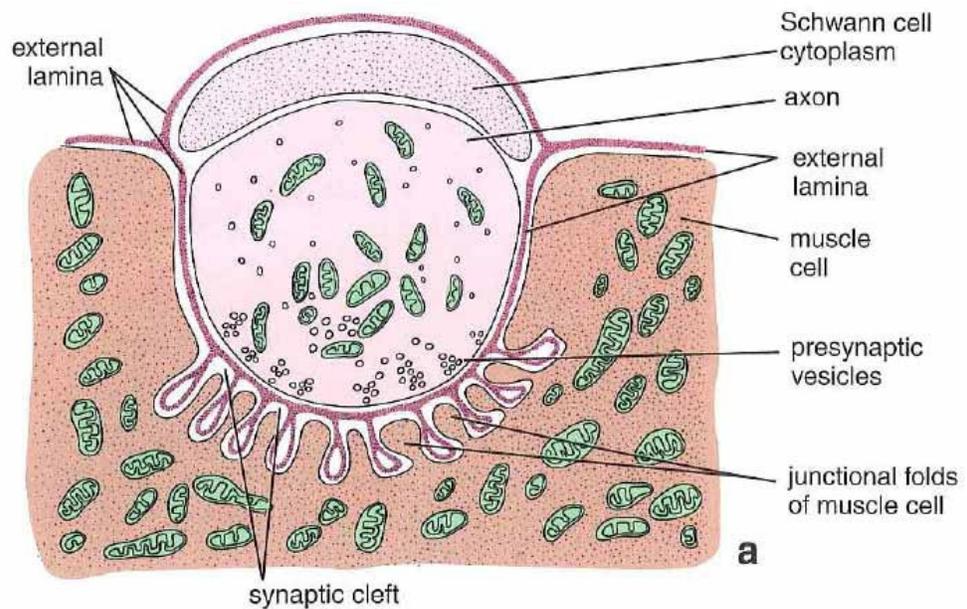
Giunzione neuromuscolare

Le fibre muscolari scheletriche si contraggono in risposta ad uno stimolo originato dal sistema nervoso centrale e che si propaga attraverso un nervo motore. Un singolo motoneurone può arrivare ad innervare diverse centinaia di fibre muscolari e l'insieme del neurone e delle fibre innervate costituisce un'unità funzionale definita unità motoria.



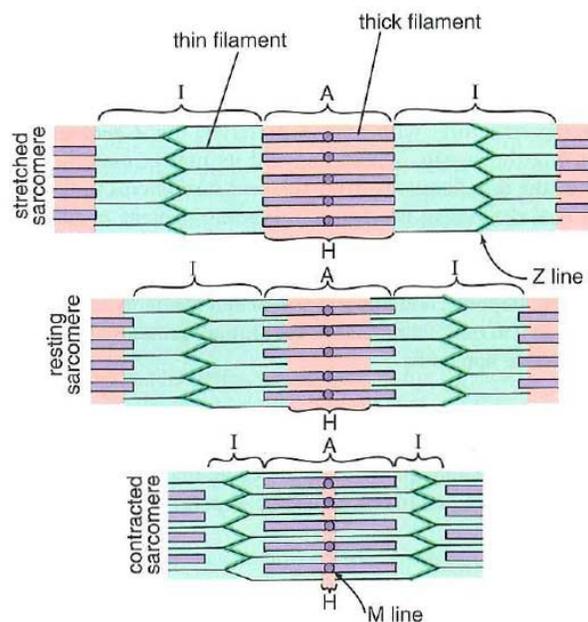
L'innervazione dei muscoli scheletrici è diversificata a seconda dei tipi di fibre muscolari; nervi di tipi diversi si distribuiscono ai differenti tipi di fibre presenti nei muscoli. Fibre nervose piccole e toniche innervano le fibre muscolari di tipo I, mentre fibre più grosse e veloci le fibre tipo II. La giunzione neuro-muscolare avviene in punti specifici della miofibra ed è denominata placca motrice. A questo livello l'assone perde la sua guaina mielinica e l'endonevrio che lo circonda e, rivestito solo dalle cellule di Schwann, si approfonda nelle fibre reticolari che

rivestono il sarcolemma. La giunzione neuromuscolare, quindi risulta costituita da una membrana pre-sinaptica, formata dal nevrilemma, ed una membrana post-sinaptica, costituita dal sarcolemma, separate da uno spazio di circa 20-30 μm che deriva dalla fusione delle due membrane basali. A questo livello il sarcoplasma si invagina ripetutamente formando numerose pieghe che costituiscono una caratteristica struttura lamellare definita apparato sottoneurale. La miofibrilla, in questa regione, è ricca di organelli citoplasmatici quali ribosomi, mitocondri e reticolo endoplasmatico ruvido, mentre nel citoplasma dell'assone si ritrovano numerosi mitocondri e vescicole ripiene di acetilcolina, che fa da mediatore chimico (Ross et al, 2002).

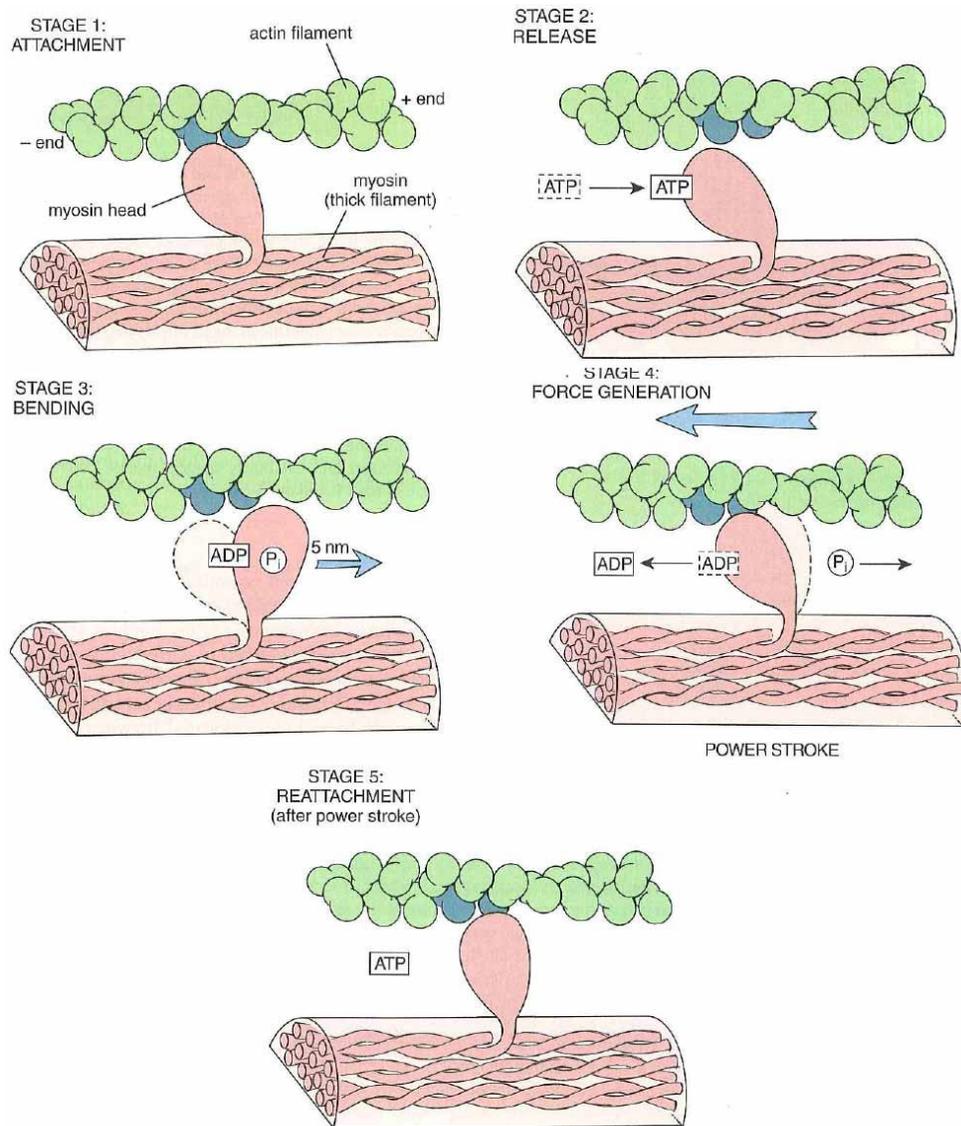


Fisiologia della contrazione muscolare

La conoscenza delle caratteristiche ultrastrutturali dell'unità morfo-funzionale del muscolo striato, il sarcomero, ha permesso la comprensione del meccanismo con cui avviene la contrazione muscolare. Come abbiamo già chiarito ogni sarcomero è costituito dalla sovrapposizione e compenetrazione dei filamenti delle proteine contrattili. Per lungo tempo si è creduto che i filamenti di actina e miosina fossero filamenti continui e che a contrazione muscolare fosse dovuta ad un cambiamento di conformazione del filamento che ne provocasse l'accorciamento. In seguito, fu suggerita l'ipotesi, supportata dall'osservazione al microscopio ottico delle bande, che i filamenti d'actina e miosina fossero distinti e che il movimento reciproco fosse dovuto allo scivolamento degli uni sugli altri. Questa intuizione, dovuta all'osservazione che la banda A, durante la contrazione muscolare e l'allungamento passivo del muscolo studiato, non mutava lunghezza, al contrario di quanto avveniva per le bande I ed H le quali si accorciavano o si allungavano determinando i movimenti muscolari (Dubowitz, Sewry, 1997).



Questa teoria fu in seguito confermata dall'osservazione diretta dei filamenti con la microscopia elettronica. Con la stessa tecnica si dimostrò, poi, che i filamenti miosinici proiettavano delle digitazioni dalla loro superficie e che, queste, si ancoravano ai filamenti di actina nella regione di sovrapposizione dei due filamenti (banda A). Si suggerì allora che il movimento di scivolamento fosse determinato da un cambiamento ciclico di conformazione di questi "ponti" che erano in grado di attaccarsi all'actina, cambiare conformazione determinando lo scivolamento reciproco, distaccarsi e tornare nella posizione iniziale per un nuovo ciclo.



La struttura dei filamenti di miosina, quindi, rispecchia la funzione a cui questi sono preposti. Essi si presentano come un lungo tubulo ($1,6 \mu m$) con un'estremità bulbosa; quest'ultima è formata da due "teste" di miosina attaccate ad una lunga coda. I due bulbi di miosina rappresentano i "ponti" di collegamento tra i filamenti di miosina e quelli di actina e determinano il movimento reciproco tra i due filamenti

Lo stimolo che determina la contrazione muscolare viene inviato dal sistema nervoso centrale e si propaga lungo tutto l'assone del nervo motore sino a giungere a livello della placca neuromuscolare. Qui la depolarizzazione della membrana assonica determina la liberazione, nello spazio sinaptico, dell'acetilcolina presente nei granuli della terminazione nervosa. L'acetilcolina si lega a recettori specifici sulla membrana del sarcolemma e aumentandone la permeabilità agli ioni, determinando così, la depolarizzazione e la propagazione dell'impulso. Dopo aver svolto il suo ruolo, l'acetilcolina viene rimossa dai recettori muscolari a mezzo dell'acetilcolinesterasi e scissa in acetato e colina. La rimozione del mediatore chimico determina l'interruzione dell'impulso nervoso. La colina viene riassorbita dal neurone per la sintesi di nuova acetilcolina. La propagazione dell'impulso dal sarcolemma all'interno della miofibrilla è dovuta alla complessa architettura del reticolo sarcoplasmatico costituito, come si è visto, da un complesso sistema di cisterne e tubuli. L'onda di depolarizzazione si propaga dal sarcolemma ai tubuli T e da questi, attraverso le cisterne terminali, alla rete di tubuli e cisterne che circonda ogni miofibrilla. La depolarizzazione della triade sarcoplasmica determina la liberazione di ioni calcio (Ca^{2+}) che sono contenuti, quando il muscolo è a riposo, ai margini di ciascun sarcomero nelle cisterne terminali. La semplice presenza del calcio intracitoplasmatico è sufficiente ad attivare il sistema contrattile annullando il potere inibente del complesso troponina-tropomiosina. Gli ioni calcio, infatti, si legano alla troponina C presente nei filamenti sottili, determinandone un

cambiamento di conformazione. La reazione con il calcio lascia libera una parte dell'actina, il monomero G-actina, che si lega con un angolo di circa 90° alla miosina. La trasformazione dell'ATP in ADP determina un cambiamento di conformazione della testa della miosina provocando un'alterazione di circa 45° dell'angolo con cui questa si lega all'actina. Questa trasformazione determina lo scivolamento reciproco dei due filamenti sottili e spessi del sarcomero originando la contrazione (MacLeay, 2004).

Metabolismo

L'energia necessaria alla contrazione muscolare deriva, principalmente, dall'idrolisi dell'adenosin-trifosfato in ADP e fosforo inorganico (P); questi ultimi attivano, per contro, la rigenerazione dell'ATP. Le principali vie di produzione d'energia sono rappresentate dalla glicogenolisi anaerobia e dalla creatinchinasi. La glicogenolisi anaerobica fornisce l'energia necessaria alla contrazione fintantoché la fosforilazione ossidativa non è in grado di sopperire ai fabbisogni energetici cellulari. Inoltre, essa interviene quando il flusso sanguigno o l'apporto di ossigeno sono insufficienti per la fosforilazione ossidativa o quando la domanda energetica supera le capacità ossidative. Il metabolismo anaerobico, perciò, ha il vantaggio di fornire velocemente energia ed a valori nettamente più alti di quelli forniti dai processi ossidativi, ma a discapito di ciò è velocemente depleto e porta alla produzione di metaboliti e sottoprodotti. Le principali fonti di energia sono il glicogeno endogeno (conservato, cioè, all'interno dei muscoli) e gli acidi grassi liberi (AGL) ed il glucosio esogeni (provenienti dal flusso sanguigno). La fosforilazione ossidativa del glicogeno, come fonte di energia, presenta numerosi vantaggi sull'utilizzo di altri tipi di "carburante" e fornisce energia più velocemente ed efficientemente rispetto al metabolismo aerobio dei grassi. Il glicogeno, tuttavia, ha una limitata disponibilità. Le miopatie metaboliche possono ridurre la capacità di utilizzazione aerobica del glicogeno secondo diverse modalità: limitando l'accesso a substrati ossidabili, limitando la produzione di equivalenti riduttori o la loro capacità riduttiva o determinando uno squilibrio tra fosforilazione dell'ADP e disponibilità d'ossigeno. Il glicogeno muscolare è il primo substrato energetico ad essere utilizzato. Ogni muscolo, infatti, possiede una riserva di glicogeno che viene metabolizzata per i fabbisogni energetici

durante lo sforzo indipendentemente dalla concentrazione di glucosio ematico
(Dubowitz, Sewry, 1997).

Rabdomiolisi

Il termine rabdomiolisi (letteralmente: distruzione del tessuto muscolare striato) sta ad indicare una sindrome che si manifesta durante o subito dopo l'esercizio ed è caratterizzata da stanchezza, affaticabilità, dolore o crampi muscolari, riluttanza al movimento che può arrivare fino al decubito del soggetto, alterazione dei parametri ematochimici, con aumento degli enzimi muscolari (CK, GOT) 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).

Nel cavallo sono state identificati, essenzialmente, due tipi di rabdomiolisi. La prima forma è caratterizzata da episodi isolati di rabdomiolisi che possono anche manifestarsi una sola volta nell'arco della vita del soggetto e sono legati, principalmente ad esercizio sovramassimale che spinge il cavallo oltre le sue capacità o la sua forma atletica. La seconda forma, invece, è caratterizzata da episodi ricorrenti di rabdomiolisi che si ripetono con frequenza ed incidenza variabile e non sono legati a sforzi intensi, ma si possono manifestare anche durante le prime fasi dell'allenamento normale (MacLeay, 2004).

Con il termine di sforzo sovramassimale viene indicato un esercizio che si spinge al di sopra delle capacità atletiche del soggetto o della sua condizione di forma e che porta ad un esaurimento delle capacità funzionali dell'organismo. Questo stato può essere provocato o aggravato dalle avverse condizioni atmosferiche come il caldo o l'alta umidità e può condurre ad una cosiddetta "multiple organic failure syndrome", cioè una simultanea insufficienza di diversi organi quali, soprattutto, i reni, il fegato ed il cuore. Tale condizione morbosa si presenta soprattutto in cavalli che competono in eventing di tre giorni o in cavalli da endurance che percorrono notevoli distanze, a

volte senza accesso diretto all'acqua. In questi tipi di gare un cavallo può arrivare a perdere dai 5-8 litri di sudore per ora d'esercizio e fino ai 25-30 litri in toto, superando le perdite calcolate per un cavallo da corsa durante lo sforzo massimale. La disidratazione conseguente alla perdita di liquidi e all'ipovolemia comporta l'aumento della viscosità del sangue, che aggrava il deficit della perfusione muscolare e l'acidosi lattica, determinata dall'esaurimento funzionale delle capacità ossidative muscolari. Il sudore del cavallo è, inoltre, ipertonico rispetto al plasma e la deplezione di elettroliti contribuisce a determinare l'insorgere della sintomatologia (MacLeay, 2004).

La rabdomiolisi ricorrente o cronica, invece, è essenzialmente legata a patologie muscolari che alterano la normale funzionalità dei muscoli scheletrici rendendoli più facilmente soggetti a rabdomiolisi. Nel cavallo sono stati identificati diversi tipi di miopatie che possono manifestarsi con un corteo sintomatologico comune e rendersi responsabile di rabdomiolisi, anche se la gran parte della letteratura disponibile è al momento concentrata essenzialmente su tre condizioni morbose. La prima forma è una miopatia metabolica associata ad episodi ricorrenti di rabdomiolisi denominata miopatia da accumulo di glicogeno (polysaccharide storage myopathy PSSM), riconosciuta soprattutto nei cavalli di razza quarter horse e relativi incroci. Tale patologia è caratterizzata, istologicamente, da un accumulo aberrante di glicogeno e polisaccaridi anomali nelle fibre muscolari. La seconda forma, denominata EPSM (Equine Polysaccharide Storage Myopathy) è una patologia simile alla PSSM, ma riportata in soggetti di razza Draft. La terza forma, invece, denominata rabdomiolisi ricorrente da sforzo (recurrent exertional rhabdomyolysis RER), è stata studiata soprattutto nei cavalli di razza purosangue inglese. L'analisi istochimica e biochimica delle fibre muscolari striate dei soggetti malati non ha evidenziato accumuli anomali di polisaccaridi o alterazioni riconducibili alla forma da accumulo

di glicogeno e, sebbene le fibre muscolari presentino un numero anomalo di nuclei centrali, non sono state evidenziate alterazioni istologiche riconducibili a difetti metabolici conosciuti. Le affinità presenti tra le alterazioni metaboliche in corso di ipertermia maligna, così ampiamente studiata in medicina umana e veterinaria, e quelle presenti in corso di RER, hanno permesso di postulare l'esistenza di alterazioni nella liberazione o nel riassorbimento del calcio intracellulare anche nei soggetti affetti da tale patologia. Nel purosangue inglese è stata dimostrata l'ereditarietà della patologia basata su un gene autosomico dominante.

Le forme ricorrenti di rabdomiolisi per le quali siano state escluse queste tre forme miopatiche e non sussistano condizioni ambientali che possano giustificare gli episodi morbosi dovrebbero essere attribuite ad una forma miopatica non ancora descritta o come idiopatiche.

Non si deve, però, confondere ogni forma di rabdomiolisi nel purosangue, nel Quarter Horse o nei Draft con la RER, la PSSM o l'EPSM rispettivamente. Non tutti i cavalli di queste razze che presentano episodi ripetuti di rabdomiolisi sono affetti da tali patologie. Purtroppo non tutti i meccanismi eziopatogenetici alla base della rabdomiolisi sono stati compresi e, non essendo disponibili un test di semplice utilizzo, la corretta diagnosi risulta complessa (MacLeay, 2004).

Patogenesi-teorie classiche

Molte sono i fattori eziologici proposti, solo per alcuni dei quali esistono evidenze sperimentali che ne confermano la validità: programmi d'allenamento irregolari, diete ricche di carboidrati, squilibri ormonali come l'ipotiroidismo, infezioni virali e deficit di vitamina E e selenio (MacLeay, 2004)(Beech J, 1997).

Squilibri dietetici

Le diete ricche in carboidrati sono state, spesso, indicate come fattori predisponenti l'insorgenza della patologia, solitamente, in concomitanza d'interruzioni del programma d'allenamento. Tuttavia, non è stato possibile evidenziare correlazioni tra fattori dietetici specifici e gli episodi di rabdomiolisi; è stato, però, possibile evidenziare una riduzione degli episodi e della gravità dei sintomi in cavalli alimentati con diete povere di carboidrati e ricche in grassi. Le alte concentrazioni di grassi sembrano avere un effetto "calmante" sui soggetti alimentati con tale regime dietetico e ridurre i livelli di cortisolo circolante. Nei purosangue, nei quali lo stress è stato riconosciuto come un possibile fattore scatenante gli episodi di rabdomiolisi, una minore eccitabilità dei soggetti potrebbe giustificare la diminuzione degli episodi. È stata anche avanzata l'ipotesi che esistesse una correlazione tra il tempo intercorso dall'ultimo pasto e l'esercizio nella determinazione della comparsa dei sintomi. Tuttavia è stato dimostrato che non esiste nessun effetto, positivo o negativo, nella somministrazione di concentrati, tra le 2,5 e le 16 ore prima dell'attività fisica. Ad oggi, la ricerca delle correlazioni tra regime alimentare e rabdomiolisi è ancora estremamente attiva. È stata, infatti, riconosciuta la possibilità che la dieta influenzi l'espressione della patologia in cavalli affetti da diverse forme

di miopatie, ma come essa possa agire in cavalli perfettamente sani non è stato ancora chiarito (Beech J, 1997).

Influenza ormonale

Molti studi riportano un'incidenza maggiore di rabdomiolisi nelle femmine, piuttosto che nei maschi (McGowan et al, 2002a; MacLaey et al, 1999b) . Il meccanismo patogenetico per il quale l'incidenza della malattia è diversa tra i due sessi è tuttora sconosciuto; infatti, non sono state ritrovate correlazioni tra un particolare periodo del ciclo estrale ed i livelli di CK sierico nei purosangue in allenamento (Fraunenfelder et al, 1986) . È, inoltre, da rilevare che gli estrogeni liberati durante il periodo estrale hanno potere antiossidante e stabilizzante delle membrane cellulari (Tidus, 2001) . Questi effetti dovrebbero, secondo studi eseguiti sia in medicina umana sia in test sperimentali su animali da laboratorio, limitare i danni muscolari indotti dall'esercizio e non, aumentarne l'incidenza (Sotiriadou et al, 2003; Tidus, 2005). Tuttavia, il meccanismo per il quale le femmine risultano maggiormente colpite dei maschi rimane tuttora sconosciuto.

L'ipotiroidismo è stato associato a miopatia in altre specie ed è stato indicato come causa di rabdomiolisi nel cavallo basandosi sui bassi livelli di T_3 e T_4 nei cavalli affetti da rabdomiolisi. Tuttavia, i livelli basali di tali ormoni possono risultare identici a quelli di cavalli normali e, sebbene la supplementazione di tiroxina possa diminuire l'incidenza di miopatia e migliorare le performance in cavalli con ipotiroidismo, non è stata ancora evidenziata una relazione diretta tra l'ipotiroidismo e la rabdomiolisi da sforzo (Beech J, 1997).

Cause infettive

Le infezioni virali possono determinare mialgia, ma non sono mai state correlate direttamente con la rhabdomiolisi, sebbene sia stato possibile osservare un calo delle performance e dolori muscolari con aumento dei valori di CK durante le infezioni da herpesvirus equino tipo 1. Ulteriori studi sono necessari per chiarire il ruolo dei virus nell'insorgenza della malattia (Beech J, 1997).

Deficienza di vitamina E e selenio.

La vitamina E ed il selenio sono direttamente responsabili della riduzione della perossidazione dei lipidi. Radicali liberi e perossidi possono danneggiare la membrana plasmatica e determinare la liberazione di ioni Ca^{2+} nel citosol con relativo danno muscolare. Le manifestazioni cliniche riportate in corso di deficienza dietetica di tali elementi sono quanto mai varie: coliche, malattie miocardiche, dolori muscolari, rhabdomiolisi, decubito, mioglobinuria e, talvolta, edemi. Tuttavia non è stato possibile correlare la deficienza di vitamina E e selenio alle espressioni della patologia, in quanto questa si presenta anche in cavalli che ricevono diete di alta qualità ed in cui la supplementazione di questi elementi è assicurata. Inoltre, le biopsie muscolari ottenute da animali affetti da rhabdomiolisi da sforzo non hanno evidenziato deficienze di tali elementi e la letteratura sull'argomento è ancora carente. Sebbene sia riconosciuto che una supplementazione di questi elementi possa essere utile in cavalli in allenamento, anche in soggetti che ricevano diete commerciali complete, dato che i fabbisogni metabolici aumentano proporzionalmente con le performance, non è stato possibile evidenziare relazioni tra la deficienza cronica di questi elementi e l'insorgenza di miopatie in cavalli sani o predisposti ad episodi di rhabdomiolisi (MacLeay, 2004)(Beech J, 1997).

Miopatie del cavallo

Le miopatie del cavallo, così come avviene in medicina umana, possono essere classificate in miopatie ereditarie, se determinate da alterazioni genetiche della struttura delle fibrocellule muscolari o, più spesso, del metabolismo del muscolo stesso, o miopatie secondarie se sono, invece, susseguenti ad altre patologie, soprattutto del sistema endocrino o immunitario, che determinano l'insorgenza della miopatia stessa. Le alterazioni geniche rappresentano probabilmente la causa più importante di miopatia, ma, contrariamente a quanto avviene in medicina umana, fino ad ora sono stati identificati pochissimi geni correlati alla trasmissione delle patologie muscolari nella specie equina. Le alterazioni geniche possono essere causa di patologie che determinano una perdita di funzionalità degli elementi strutturali del muscolo come il sarcolemma, la lamina basale od il sarcomero, oppure di alterazioni degli enzimi e del metabolismo muscolare. Le miopatie ereditarie del cavallo possono essere, quindi, suddivise in:

- Alterazioni del metabolismo dei carboidrati,
- Alterazioni del metabolismo dei lipidi,
- Miopatie mitocondriali,
- Alterazioni dei canali ionici e dei flussi di elettroliti.

Alterazioni del metabolismo dei carboidrati

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 Valberg et al. 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 rabdomiolisi 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.

Alterazioni del metabolismo dei lipidi

Il metabolismo muscolare dei lipidi, così come nell'uomo, nel cavallo avviene attraverso tre momenti fondamentali: l'assorbimento e attivazione degli acidi grassi liberi (AGL) da parte delle fibre muscolari, il trasporto degli AGL attraverso la membrana mitocondriale, e la β -ossidazione degli AGL nei mitocondri. A differenza di quanto avviene nell'uomo, però, non sono ancora state identificate miopatie

metaboliche causate da alterazioni dei primi due momenti del processo di utilizzazione dei grassi. Questa difformità può essere facilmente spiegata se si considera che la dieta degli equini è molto più povera in carnitina rispetto a quella degli esseri umani ed i fabbisogni di questo elemento vengono soddisfatti attraverso una produzione endogena che avviene nel fegato. Non sono state evidenziate differenze tra i livelli di carnitina ed acil-carnitina tra cavalli sani e cavalli soggetti ad episodi ricorrenti di raddomiolisi (Van der Hoven et al, 1989) , così come non sono state evidenziate differenze nell'attività enzimatica responsabile del metabolismo dei grassi tra animali sani e cavalli soggetti a raddomiolisi(Sholte et al, 1991) . Non sono, quindi, state evidenziate miopatie da deficit di carnitina nel cavallo; tuttavia, è stata descritta una miopatia da deficit dell'Acyl-CoA-deidrogenasi (Multiple Acyl-CoA Dehydrogenase Deficiency MADD) (Westermann et al, 2007).

Miopatie mitocondriali.

Gli studi sulle miopatie mitocondriali nel cavallo sono relativamente pochi così come le alterazioni enzimatiche riscontrate. L'unica anomalia nella catena respiratoria mitocondriale riscontrata è stata un'alterazione del complesso I: un deficit della NADH-CoQ-reduttasi (Beech, 2000; Valberg et al, 1994). La diagnosi è stata emessa sulla base dei sintomi (intolleranza all'esercizio), acidosi per l'utilizzo esteso della glicolisi anaerobia, test dell'utilizzo dell'ossigeno, biopsia muscolare e misurazione degli enzimi coinvolti. In medicina umana la diagnosi di certezza è supportata dall'analisi del DNA mitocondriale; è possibile ipotizzare un utilizzo, in futuro, della stessa tecnica anche per il cavallo ora che il DNA mitocodriale equino è stato mappato.

Alterazioni dei canali ionici e del flusso degli elettroliti.

Le alterazioni che coinvolgono il flusso degli elettroliti attraverso i canali ionici sono forse le miopatie meglio studiate nella specie equina.

La paralisi periodica iperpotassica è stata descritta, la prima volta, nel 1985 (Beech, 2000) . Sembra che sia comparsa come mutazione genica nello stallone Impressive, di razza Quarter Horse e poi trasmessa alla progenie. I sintomi clinici sono rappresentati da miotonia, fascicolazioni muscolari e, a volte, prolasso della terza palpebra accompagnato da disfunzioni laringee e faringee. Non sono riscontrabili anomalie tra un attacco e l'altro e, di solito, i cavalli hanno una buona muscolatura. Durante gli attacchi, a volte, è possibile rilevare un innalzamento del potassio ed un abbassamento del sodio. È possibile determinare l'insorgenza della sintomatologia con la somministrazione orale di potassio, tuttavia gli effetti cardiaci dell'iperkaliemia rendono questa prova sconsigliabile. Una buona alternativa diagnostica è data dalla misurazione intraeritrocitaria di potassio (Muyllé et al, 1984). La diagnosi di certezza si ottiene tramite l'analisi del DNA del soggetto tramite PCR per evidenziare il tratto autosomico dominante responsabile della patologia (Nollet et al, 2005).

La miotonia, rara nel cavallo, è stata descritta per la prima volta da Jamison nel 1987 (Jamison et al, 1987). Egli riscontrò la patologia in un puledro di razza Quarter Horse. Non erano presenti anomalie all'esame ematochimico, ma all'esame autoptico furono riscontrate alterazioni metabolico-distrofiche a carico della muscolatura scheletrica. Descritta anche da Montagna nel 2001 (Montagna et al, 2001), la patologia si caratterizza per un'incapacità del soggetto nel rilassare i muscoli dopo stimolazione. Sebbene la trasmissione genetica non sia mai stata provata, la patologia si trasmette con caratteri di familiarità e si manifesta, di solito, nel primo anno di vita. Non ci sono alterazioni degli enzimi muscolari e la diagnosi è basata

essenzialmente sui segni clinici; quando possibile il clinico può avvalersi dell'elettromiografia che mostra alterazioni caratteristiche. I sintomi sono maggiormente evidenti in corso di stress, trasporto o iniezioni intramuscolari. L'eziologia non è mai stata chiarita, ma si crede sia causata da un'alterazione dei canali del cloro. Non sono evidenziabili importanti alterazioni istopatologiche, cosa che la distingue dalla miotonia distrofica che è caratterizzata da un quadro istopatologico muscolare estremamente modificato (Nollet et al, 2005).

L'ipertermia Maligna (IM) è una sindrome descritta nel cavallo così come in altre specie come l'uomo, il cane ed il suino. È caratterizzata clinicamente da un aumento repentino della temperatura corporea e rigidità dei muscoli scheletrici dopo la somministrazione di agenti anestetici inalatori e/o miorilassanti. Altri sintomi sono: tachicardia, tachipnea, aritmie, acidosi, mioglobinuria ed alterazioni del profilo biochimico muscolare; occasionalmente si può anche manifestare l'exitus del soggetto con rigor mortis acuto. La patologia è determinata da un'anomalia genetica del gene che codifica per il recettore RYR1, anche conosciuto come canale di rilascio del calcio del reticolo sarcoplasmatico.

La rabdomiolisi da sforzo ricorrente (recurrent exertional rhabdomyolysis RER) del purosangue inglese ha un'incidenza di circa il 5%. È più frequente nelle femmine ed è associata a diversi tipi di stress. I sintomi possono spaziare da una semplice rigidità muscolare fino all'immobilità ed al decubito. Le speculazioni che ritenevano la rabdomiolisi correlata ad alterazioni del trasporto del calcio sono state supportate da un lavoro di Lopez (Lopez et al, 1995) che individuava un aumento del calcio intracellulare a riposo in cellule d'animali affetti dalla patologia. Tuttavia, esperimenti condotti sulla fluorescenza del calcio in miotubuli coltivati da cellule di purosangue con RER non hanno rilevato differenze tra gli animali sani ed i malati. Questa discrepanza può essere, però, dovuta alla differente tecnica con cui sono state

rilevate le concentrazioni di calcio, alla differente selezione dei casi o alla minore differenziazione dei miotubuli rispetto alle cellule mature (Lentz et al, 2002). Le cellule di purosangue ed altre razze suscettibili di RER sono ipersensibili ad agenti che provocano il rilascio di calcio dal SE come la caffeina, un potente attivatore del recettore RYR1. La caffeina è utilizzata per individuare nell'uomo, nel maiale e nel cane i soggetti suscettibili alla ipertermia maligna (IM) quando sottoposti ad anestesia con alotano. Gli uomini e i maiali con IM sono anche suscettibili a rabdomiolisi indotta da stress o esercizio fisico. È doveroso evidenziare che non tutti gli studi riportano una maggiore suscettibilità alla caffeina dei muscoli di soggetti con rabdomiolisi: ciò può essere dovuto alla inclusione nei campioni analizzati di soggetti affetti da diversi tipi di rabdomiolisi.

I cavalli affetti da rabdomiolisi positivi al test della caffeina, non presentano le alterazioni istopatologiche caratteristiche del maiale o dell'uomo e non mostrano una iper-reattività al 4-cloro-m-cresolo, un agonista specifico del RYR1. Resta comunque da rilevare che altri geni, oltre a quello che codifica per l'RYR1, sono stati identificati come responsabili di IM nell'uomo e considerato che anche altre proteine regolano il flusso di calcio intracellulare, la causa potrebbe essere identificata in un'altra anomalia genetica. Nel cavallo, recentemente sono stati esclusi, oltre all'RYR1 anche altri geni coinvolti nella regolazione dei canali del calcio quali il CACNA1S e l'ATP2A1, ma i geni responsabili della genesi della patologia risutano tuttora sconosciuti (Dranchan et al, 2006)

Segni clinici

La patologia si manifesta con quadri clinici differenziati per tipologia ed entità dei sintomi. Alcuni cavalli manifestano solo un calo delle prestazioni agonistiche e un'andatura rigida. Sebbene la muscolatura degli arti posteriori sia più frequentemente e gravemente colpita rispetto a quella degli anteriori, talvolta i segni clinici si possono riscontrare anche a carico degli arti toracici e persino in maniera più marcata rispetto ai posteriori. I soggetti possono mostrare insofferenza al lavoro e simulare una zoppia. In stazione il cavallo può mostrare una facies ansiosa, atteggiamento di minzione e alternanza del carico sugli arti. I segni clinici possono essere, talvolta, inconsistenti e presentarsi anche in seguito ad esercizio leggero. Altre volte, invece, essi possono apparire gravissimi e simulare dolori colici. I soggetti sudano profusamente e sono tachipnoici, tachicardici e ipertermici. Possono, inoltre, collassare e non essere in grado di rialzarsi. All'esame clinico, tuttavia, non sono presenti segni di interessamento gastrointestinale eccetto, talvolta, un ileo e la diagnosi di rabdomiolisi è effettuata in base all'esame biochimico ed alla mioglobulinuria. In maniera incostante si possono presentare crampi e gonfiori muscolari. Le forme più lievi possono anche passare inosservate dato che i crampi muscolari sono passeggeri e i valori sierici di CK sono inferiori a 1500 UI/l e di GOT inferiori a 500 UI/L già dopo 1-4 ore (i valori di CK e di GOT vanno sempre correlati al range considerato fisiologico dal laboratorio) (Beech J, 1997).

Diagnosi

Una diagnosi corretta è basata sull'anamnesi, seguita da un esame clinico completo, dall'esame neurologico e dell'apparato muscoloscheletrico e da indagini collaterali cliniche e di laboratorio.

Valori sierici di CK e AST

I più comuni indicatori di danno muscolare utilizzati nella pratica clinica sono le concentrazioni sieriche o plasmatiche di CK, AST e spesso di LDH. La fonte primaria di CK è rappresentata dai muscoli scheletrici e cardiaco, mentre l'AST e l'LDH sono altrettanto rappresentativi di danno epatico. Un rialzo degli ultimi due, senza aumento del valore di CK dovrebbe indirizzare il clinico verso un'analisi più approfondita della funzionalità epatica. L'aumento di questi enzimi, purtroppo non è sempre direttamente correlato con l'entità del danno muscolare subito e può fluttuare in relazione al programma di allenamento, allo stato fisico dell'animale ed al tempo intercorso tra il prelievo e l'evento patologico. La corretta interpretazione di modici aumenti di questi enzimi è, quindi, assai difficoltosa, soprattutto se si tiene in considerazione che i normali livelli circolanti di CK rappresentano la quantità di questo enzima contenuto in un solo grammo di tessuto muscolare e, anche quando questo è aumentato, riproduce la quantità contenuta in appena 20 grammi di tessuto.

L'analisi dei livelli di AST risulta particolarmente utile quando si sospetta che l'episodio di rhabdmiolisi sia avvenuto qualche giorno prima del prelievo. I livelli di questo enzima, infatti, tendono ad aumentare con un ritardo di circa 48-36 ore rispetto al danno muscolare quando, cioè, i livelli di CK tendono verso la normalizzazione (Beech J, 1997). L'analisi delle variazioni dell'LDH per la diagnosi di danno muscolare, secondo alcuni autori, è meno significativa rispetto alla

valutazione degli altri due enzimi citati. Questa differenza è dovuta soprattutto alle molteplici isoforme dell'enzima presenti nell'organismo, rappresentative di alterazioni a carico di diversi organi, oltre che del muscolo, quali, fegato, intestino e miocardio (MacLaey 2004). La tipizzazione dell'isoforma coinvolta può accertare la presenza di un danno muscolare anche se, routinariamente, non viene effettuata.

Mioglobinemia e mioglobinuria

La mioglobina è una delle più importanti proteine muscolari. Essa si ritrova aumentata nel siero e, di conseguenza, nelle urine a seguito di un danno muscolare che ne determini la liberazione dal sarcoplasma. La mioglobina è una proteina filogeneticamente legata all'emoglobina, della quale possiede un identico gruppo eme; essa lega, tuttavia, una sola molecola di ossigeno contro le quattro dell'emoglobina, non avendo la stessa struttura a quattro catene. Si ritrova nelle fibre muscolari rosse scheletriche e cardiache dei vertebrati e la sua funzione è quella di immagazzinare l'ossigeno all'interno della fibra muscolare. L'ossigeno può essere così utilizzato dal muscolo quando si trovi a scarseggiare quello derivante dal flusso sanguigno. La presenza della mioglobina, inoltre aumenta le capacità di trasporto dell'ossigeno attraverso la membrana sarcoplasmatica. La desossi-mioglobina capta l'ossigeno dall'emoglobina a livello dei capillari e la trasporta ai citocromi per il metabolismo energetico muscolare.

Il sintomo più evidente di mioglobinuria è la colorazione assunta dalle urine. Queste, a seconda della quantità di mioglobina escreta, si colorano più o meno intensamente diventando ambrate o, addirittura, color "cola". Questo tipo di colorazione avviene quando l'escrezione di mioglobina supera i 250 $\mu\text{g/mL}$. Tecniche sempre più sensibili di misurazione permettono la rilevazione precoce di danni alle fibre muscolari ed alle loro membrane, anche quando questi non siano estesi.

L'escrezione di mioglobina, tuttavia, varia da individuo ad individuo, soprattutto in caso d'insufficienza renale. La pigmenturia può verificarsi anche in caso di emoglobinuria o Porfiria, ma il quadro clinico è notevolmente diverso. La colorazione scura delle urine dovrebbe far ipotizzare sempre la presenza di mioglobinuria, in assenza di globuli rossi nelle urine o di segni d'emolisi (colorazione rosata del siero) o in presenza di elevati livelli sierici di CK (Dubowitz, Sewry, 1997).

La mioglobinuria, tuttavia, si presenta in maniera palese in corso di ingente necrosi muscolare come in caso di eventi traumatici, ma è tuttavia riscontrabile in un'ampia gamma di eventi, che possono andare dal semplice sforzo sovramassimale in muscoli normali, ma poco allenati, o ad una alterata distribuzione trans-membrana di sali e acqua, fino all'esposizione a tossine o alle alterazioni metaboliche in corso di miopatia (MacLeay, 2004).

La rilevazione precoce della mioglobina nel siero ematico, in medicina umana, è possibile soprattutto grazie a nuove tecniche immunochimiche come la RIA. Con questa tecnica è possibile rilevare anche piccole fluttuazioni nella concentrazione sierica di questa proteina, con un potenziale utilizzo nella diagnosi precoce di miopatie, miositi e dell'infarto miocardio, laddove l'aumento di mioglobina avviene prima di quello dei livelli di CK (Dubowitz, Sewry, 1997). La disponibilità di test accurati, specifici e sensibili per la specie equina potrebbe notevolmente aumentare le possibilità diagnostiche a disposizione del clinico.

Test di sforzo

I sintomi, in corso di patologie metaboliche muscolari, sono *direttamente correlati allo sforzo fisico*. L'esecuzione dei test di sforzo rappresenta, quindi, uno strumento importantissimo per la valutazione dei disordini muscolari. In base a questo tipo di

test, infatti, si possono valutare qualitativamente e quantitativamente i deficit motori, riprodurre i sintomi stress-indotti ed indagare la patofisiologia delle ridotte capacità motorie. Inoltre, l'esecuzione di test da sforzo è indispensabile per valutare le capacità metaboliche muscolari ed, eventualmente, la risposta terapeutica del soggetto. L'esercizio aumenta la richiesta energetica del muscolo determinando un aumento dell'idrolisi di ATP. Lo squilibrio tra richiesta energetica e le capacità di fosforilazione dell'ADP da parte di un muscolo patologico determina un'alterazione dei processi metabolici da questo dipendenti: insufficiente produzione d'energia per la contrazione muscolare (affaticamento, debolezza), incapacità nel rilassamento muscolare (crampi, contratture), alterazione dei gradienti ionici transmembrana, e alterazione dell'integrità cellulare (dolore, necrosi, mioglobinuria). Alcuni di questi sintomi sono riconducibile alla deplezione di ATP, mentre altri, verosimilmente, sono dovuti all'accumulo dei metaboliti (ADP, fosforo inorganico) e ioni H^+ che, da soli o in combinazione, riducono l'attività dell'ATPasi e determinano danni cellulari. Il test di sforzo, inoltre, può confermare la diagnosi di deficit metabolico anche quando un completo esame biochimico routinario non rileva anomalie. In corso di Rabbdomiolisi, infatti, è possibile rilevare anomalie biochimiche in meno della metà dei pazienti (Dubowitz, Sewry, 1997). Il test di sforzo, quindi, può essere utilizzato per valutare le capacità metaboliche-ossidative del soggetto tramite il prelievo di campioni di sangue prima, durante e dopo l'esercizio e valutando le alterazioni seriate dell'esame biochimico. Il prelievo di sangue può essere, a seconda dei parametri da valutare, sia di sangue venoso che arterioso per accertare anomalie del profilo enzimatico od ossidativo, rispettivamente. Nel cane, la possibilità di rilevare una progressiva acidosi metabolica non ipossica dopo esercizio e l'alterazione dei livelli di piruvato e del rapporto lattato/piruvato è risultata significativa nella diagnosi di miopatia mitocondriale da deficit di piruvato deidrogenasi. Il test risulta

particolarmente utile soprattutto in considerazione del fatto che l'utilizzo di test biochimici diretti sulla respirazione mitocondriale, così come avviene in medicina umana, può essere di difficile realizzazione nella pratica clinica veterinaria. In contrasto con l'estrema evidenza dei sintomi durante o dopo l'esercizio, molti pazienti non mostrano quasi sintomatologia durante i periodi di riposo, quando la richiesta energetica è bassa. Questa intolleranza all'esercizio viene spesso attribuita ad una mancanza di allenamento o ad uno scarso valore atletico del soggetto allontanando il clinico dalla corretta diagnosi.

Biopsia muscolare

L'uso della biopsia muscolare può essere utile per ottenere dati istologici, istochimici e biochimici del muscolo prelevato ed identificare alterazioni istologiche o metaboliche. Con l'accesso ad un laboratorio che effettui test in vitro sul campione biotico si può valutare la frazione di accorciamento muscolare e la regolazione del calcio nel reticolo sarcoplasmatico in diverse condizioni sperimentali come, ad esempio, avviene per l'effettuazione del test di sensibilità alla caffeina per accertare la predisposizione all'ipertermia maligna. Vengono normalmente utilizzati per il campionamento il muscolo gluteo medio ed il semimembranoso (Beech J, 1997). Questi muscoli sono, di solito, rappresentativi di condizioni miopatiche generalizzate e permettono di ottenere sezioni di fibra muscolare abbastanza lunghe per i test senza arrecare grossi danni al muscolo originario. Nei rari casi in cui il bipede anteriore risulta maggiormente colpito, è conveniente utilizzare un muscolo proveniente da questa regione anatomica. Può essere utile contattare il laboratorio specializzato nell'analisi del campione prima di effettuare il prelievo per accordarsi sulle metodiche di invio. Anche se non è disponibile, per il clinico pratico, l'invio del campione previo congelamento in isopentano, i laboratori, di solito, giudicano

sufficiente l'invio, entro 24 ore, del campione posizionato in una benda di garza inumidita con soluzione fisiologica e refrigerato con normali siberini. I rilievi istologici potrebbero non evidenziare anomalie o alterazioni di lieve entità. È possibile riscontrare una moderata miopatia degenerativa con internalizzazione dei nuclei, necrosi focale e, talvolta, fibrosi e infiltrazione di grasso (Beech J, 1997).

Terapia

Instaurare una corretta terapia per un cavallo affetto da rabdomiolisi può presentare notevoli difficoltà ed insidie per il clinico e, per questo, non può prescindere da un'attenta diagnosi. La terapia della patologia può essere, in pratica, divisa in due fasi: il trattamento dell'episodio acuto di rabdomiolisi che mira soprattutto a limitare i danni causati dalla necrosi muscolare ed a ristabilire lo stato fisiologico del soggetto, ed il trattamento delle cause scatenanti la patologia, atto a prevenire o a limitare l'espressione sintomatologica.

Durante un episodio acuto di rabdomiolisi, la terapia dovrebbe essere mirata a:

- impedire o limitare ulteriori danni al tessuto muscolare
- ridurre il dolore e l'agitazione del soggetto
- ripristinare l'equilibrio fluido-elettrolitico
- limitare i danni renali prodotti dalla mioglobinuria.

In generale, l'esercizio è controindicato nella maggior parte dei casi di rabdomiolisi e, anche se nei casi più lievi i soggetti che mostrano solo crampi muscolari e rigidità muscolare possono beneficiare di un esercizio leggero, è assolutamente controindicato costringere al movimento soggetti colpiti in maniera più grave. I soggetti riluttanti al movimento, in preda ai dolori muscolari ed in evidente stato di ansietà, che non possono raggiungere le stalle se non percorrendo brevissime distanze dovrebbero essere trasportati in van. Se il sistema cardiocircolatorio non è compromesso, possono essere somministrati tranquillanti, come l'acepromazina, per ridurre l'agitazione dei soggetti e migliorare la circolazione periferica. Può essere consigliato l'uso dei FANS per ridurre i sintomi e il dolore nei soggetti che non presentano pigmenturia evidente. Nei casi più gravi si consiglia l'utilizzo di analgesici più potenti come il butorfanolo o la detomidina. La somministrazione di

dantrolene sodico è stata raccomandata alla dose di 2mg/kg diluito in normale soluzione salina e somministrato tramite sonda rinosofagea. Nei soggetti che manifestano sintomi gravi, emocoagulazione o mioglobinuria, è di vitale importanza il ripristino dell'equilibrio fluido-elettrolitico e l'induzione della diuresi. Se l'episodio si è manifestato durante gare di endurance, i soggetti mostrano, di solito, uno squilibrio alcalino, rendendo la terapia con bicarbonato sconsigliata. In animali disidratati, la mioglobina può avere, con un meccanismo vasoattivo, effetti necrotizzanti sul parenchima renale. Importantissima, quindi, è la somministrazione di fluidi. La dose raccomandata di soluzioni elettrolitiche bilanciate è di 2-3L/h finché le urine non sono di colore chiaro. Il controllo periodico dell'ematocrito, delle proteine plasmatiche e degli elettroliti fornisce le indicazioni necessarie al proseguimento della terapia nelle ore successive (MacLeay, 2004).

La prevenzione di nuovi episodi di rhabdomiolisi rappresenta l'altro aspetto fondamentale nel trattamento della rhabdomiolisi. Sono state proposte diverse prospettive terapeutiche, alcune di queste sono supportate da rilievi scientifici; tuttavia è difficile instaurare una terapia adeguata per ogni diversa manifestazione clinica. Gli interventi terapeutici descritti si basano soprattutto su: cambi di dieta, terapia elettrolitica, cambi d'allenamento, terapia antiossidante e trattamenti farmacologici (MacLeay, 2004) (Beech J, 1997).

Dieta

Nonostante le differenti eziologie e patogenesi, la sostituzione di una parte delle calorie provenienti dai carboidrati, con grassi aggiunti alla razione, riduce la gravità degli episodi di rhabdomiolisi sia nei purosangue affetti da RER che nei Quarter Horse affetti da PSSM (Valentine et al, 1998; Valentine et al, 1997; De La Corte et al, 1999; Firshman et al, 2003; Valentine et al, 2001; McKenzie et al, 2003). Le diete ricche di grassi hanno un effetto calmante sui cavalli e sono state associate ad una

diminuzione dei livelli di cortisolo circolante, ad una frequenza cardiaca più bassa a riposo e ad un più docile sottomissione al lavoro (Harkins et al, 1992; Holland et al, 1996). L'effetto terapeutico maggiore di tali diete è stato attribuito, probabilmente, agli effetti sedativi delle diete ricche di grassi, vista la rapida diminuzione dei valori di CK plasmatici rispetto alle più lente modificazioni metaboliche indotte dal cambio di dieta. La maggior parte degli studi indica una dieta contenente circa il 20% di grassi con una parallela riduzione dei carboidrati per mantenere stabili le calorie totali ingerite. In alcuni casi, come nel caso di utilizzo di oli vegetali, la dieta così formulata può risultare non appetibile e fonti diverse di grassi debbono essere valutate. In ogni caso, tali diete devono essere attentamente bilanciate per evitare squilibri di altri elementi che possono risultare deficitari.

Esercizio

L'evidenza mostra che un regolare programma di allenamento con l'introduzione graduale del carico di lavoro, lasciando, possibilmente gli animali liberi al pascolo quotidianamente, riduce le possibilità di rhabdomiolisi nei soggetti predisposti. La validità di tali accorgimenti è da attribuire, forse, sia alla più razionale gestione degli animali, sia ad una loro minore eccitabilità.

Terapia elettrolitica

Lo studio degli squilibri elettrolitici rappresenta un ulteriore campo di ricerca nella determinazione di possibili meccanismi patogenetici. La ricerca in quest'ambito è dettata soprattutto dalle possibili analogie con la medicina umana e gli esperimenti condotti su altre specie animali. Nel cane la deplezione di potassio conduce ad episodi di rhabdmiolisi in seguito ad esercizio fisico. I soggetti colpiti presentano basse concentrazioni e rilascio di potassio intracellulare e una diminuzione del flusso sanguigno muscolare. Tuttavia, esistono differenze di specie nel metabolismo del potassio. Il cavallo, infatti, ha la possibilità di risparmiare potassio quando alimentato

con diete a basso contenuto di quest'elemento e, sebbene alcuni farmaci, come la furosemide, od uno sforzo fisico prolungato, come le gare di endurance, possano determinare un'insufficienza acuta, è difficile riprodurre un'alterazione cronica della concentrazione di potassio tale da giustificare episodi ricorrenti di rabdomiolisi. Altri squilibri elettrolitici sono stati chiamati in causa come possibile causa di rabdomiolisi come: l'iponatremia e uno squilibrio tra calcio e fosforo. Anche se queste alterazioni possono determinare l'insorgenza di crampi muscolari e affaticamento, esse non sono mai state correlate direttamente con episodi di rabdomiolisi. L'utilizzo di soluzioni elettrolitiche per bilanciare squilibri accertati può, quindi, essere necessaria, in alcuni animali, per ripristinare i livelli fisiologici dei vari microelementi. Tuttavia, il popolare utilizzo di soluzioni alcalinizzanti prima dell'esercizio è inutile, visto che gli animali soggetti a rabdomiolisi non sono acidotici ed, anzi, l'esercizio può indurre alcalosi metabolica (Beech J, 1997).

Terapia antiossidante

L'utilizzo di antiossidanti come la vitamina E (1-6 UI/Kg/die di α -Tocoferolo) e selenio (1-2 mg/die) è indicato negli animali che ne risultano deficitari.

Terapia farmacologia

È stato proposto l'utilizzo di molti farmaci per il controllo e la prevenzione degli episodi di rabdomiolisi, ma la loro reale efficacia, in molti casi, non è stata dimostrata completamente. L'utilizzo della fentoina è stato uno dei primi rimedi proposti, ma si tratta di un farmaco costoso, che interagisce con altri farmaci, può causare atassia, sedazione, attacchi epilettici e decubito. Il dantrolene è stato usato, oltre che per la terapia degli episodi acuti, anche in via preventiva, somministrato per via nasogastrica, 1h prima dell'esercizio dimostrando una certa efficacia nella prevenzione della patologia nel purosangue inglese (Edwards et al, 2003). Tuttavia, lo studio è stato condotto su di un numero relativamente ridotto di animali e nel

periodo iniziale dell'allenamento quando lo sforzo richiesto è inferiore a quello massimale e la razione giornaliera più bassa.

Le segnalazioni aneddotiche di rimedi più o meno basati su rilievi scientifici e la naturale propensione degli allenatori e proprietari per i rimedi “semplici” ha, probabilmente, distolto l'attenzione dalla reale natura delle difficoltà terapeutiche che derivano dall'incapacità nel riconoscere le diverse eziologie delle varie manifestazioni patologiche. Per questi motivi sono stati riportati diversi trattamenti preventivi, pochi dei quali sono stati valutati in maniera oggettiva.

Le nuove vedute sulle diverse eziologie e sulle miopatie che determinano la sindrome potranno, in futuro aprire la strada a terapie mirate per ogni patologia.

Parte sperimentale

RER nel purosangue inglese e correlazioni con il trottatore

La rabdomiolisi ricorrente da sforzo, come già descritto, è una sindrome riconosciuta nel purosangue inglese che limita o impedisce il normale svolgersi dell'allenamento aumentando i costi di gestione e veterinari. (Jeffcott et al, 1982). La patologia si manifesta con episodi ricorrenti di rabdomiolisi scatenati dall'esercizio, anche lieve, ed è favorito dalla presenza di alcuni fattori predisponenti (MacLaey et al., 1999b, Fraunenfelder et al, 1986). All'origine del quadro clinico sembra esservi un'alterazione del meccanismo di rilascio del calcio non ancora identificata che interferisce con la fisiologia della contrazione muscolare nei soggetti colpiti. (Ward et al, 2000). Nel purosangue inglese l'incidenza della patologia si assesta attorno al 5-7% in Minnesota e Regno Unito, rispettivamente, ed è stata riconosciuta l'esistenza di alcuni fattori predisponenti quali il sesso, il temperamento, l'età e la presenza di zoppie (MacLeay et al., 1999b). Questi fattori sembrano avere un'enorme influenza sull'espressione della malattia. Secondo uno studio di McGowan (2002a) le femmine sono tre volte più soggette alla malattia rispetto ai maschi; allo stesso modo i soggetti nervosi hanno possibilità tre volte maggiori di essere affetti. Anche l'età rappresenta un fattore molto importante: i soggetti malati di due anni sono 2,5 volte più numerosi dei soggetti di tre o più anni. Al di sotto dei tre anni il temperamento acquisisce un ruolo fondamentale nella genesi della patologia, in quanto i soggetti nervosi di due anni affetti da malattia sono tredici volte maggiori rispetto a quelli sani. Lo stesso autore, differentemente da quanto riporta MacLeay, non riconosce differenze tra i soggetti portatori di zoppia e quelli sani. Entrambi gli autori riconoscono la possibilità di un'interazione tra sesso ed età, visto che gli animali più giovani soggetti alla malattia sono prevalentemente femmine, mentre i più anziani sono ugualmente distribuiti tra i due sessi. Questa relazione potrebbe essere influenzata

dall'eccitabilità dei soggetti, considerato che il temperamento nervoso viene, da entrambi, riscontrato nelle femmine giovani più che nei maschi della stessa età. Con il tempo e l'esperienza, gli animali tendono a diventare più docili ed il temperamento gioca un ruolo minore nella genesi della malattia. Tutti i fattori menzionati possono scatenare o favorire l'insorgenza della malattia in soggetti predisposti alla patologia. Tale predisposizione, secondo quanto dimostrato da MacLaey in un precedente studio, è determinata, geneticamente, dalla trasmissione di un tratto autosomico dominante con espressione variabile (MacLaey et al, 1999a). Lo studio è stato effettuato tracciando l'ereditabilità della malattia in 4 famiglie di purosangue inglesi allevati negli Stati Uniti, esaminando la genealogia fino a cavalli nati nel 1930 e calcolando le possibilità di trasmissione di coppie di alleli identici, attraverso accoppiamenti in consanguineità, tra un soggetto portatore del gene ed un suo discendente.

È possibile riscontrare episodi ricorrenti di rabdomiolisi anche in altre razze e, soprattutto, nel cavallo trottatore. Le analogie sintomatologiche tra le patologie sono numerose ed è stata suggerita la possibilità che, in realtà, si tratti della stessa patologia. Tuttavia, in letteratura, scarseggiano lavori concentrati sul cavallo trottatore e, fatta eccezione per alcuni studi di genetica (Collinder et al, 1997), gli studi che includono trottatori nel campione studiato, comprendono soggetti di razze quanto mai diverse e sono per lo più tesi a studiare i caratteri della sindrome in determinate aree geografiche (Cole et al, 2004; Reeben et al, 2006).

Scopo del nostro lavoro, quindi, è stato di valutare l'incidenza ed i fattori di rischio significativi dell'insorgenza di rabdomiolisi nel cavallo trottatore italiano (TI) in attività agonistica.

Materiali e metodi

Tra novembre 2005 e novembre 2006, con cadenza mensile, sono stati sottoposti ad intervista, gli allenatori e/o i veterinari curanti di 13 scuderie di cavalli da trotto in allenamento. Tutti i soggetti referenti sono stati contattati nello stesso periodo e, una volta accertata la loro disponibilità, sono stati sottoposti ad un'intervista generale per accertare la rispondenza ai requisiti minimi per l'inclusione nel campione. A questo scopo sono stati considerati indispensabili: la capacità di riconoscere i sintomi legati alla sindrome da parte di ciascun soggetto, l'utilizzo di esami sierologici per accertare la diagnosi e di controlli ematochimici di screening sui soggetti sani. Una volta accertata, per ciascuna scuderia, la rispondenza a detti requisiti, sono state programmate le interviste successive. Queste sono state effettuate sempre dagli stessi intervistatori direttamente in scuderia, sulla base di un questionario a risposta predefinita appositamente strutturato. Erano considerati affetti da RML quei soggetti che avessero manifestato almeno un episodio clinicamente evidente, associato o meno a mioglobinuria e confermato da indagini ematochimiche. Il questionario era articolato in una parte generale, per i dati inerenti l'intera scuderia (numero, sesso e alimentazione dei cavalli allenati) ed una sezione relativa ai soggetti affetti da RML, dei quali venivano registrati: età (2-4 anni, 5-7 anni); sesso (maschio, femmina, castrone); temperamento (tranquillo/nervoso); categoria (somme vinte e tempo al km); razione giornaliera di concentrati (kg); eventuali cambi di allenatore o di guida prima dell'ultimo episodio; tipo di lavoro effettuato al momento della manifestazione clinica, eventuale numero di giorni di riposo precedenti l'evento e presenza di zoppia e/o esposizione a malattie respiratorie prima dell'ultimo episodio.

Per ogni cavallo affetto da RML, sono stati ottenuti gli stessi dati relativi a due soggetti controllo della stessa scuderia, scelti a caso, che non avessero mai presentato sintomi clinici o alterazioni ematochimiche riferibili ad RML. I dati dei soggetti

affetti da RML sono stati confrontati con quelli dei soggetti sani mediante software d'analisi statistica Microsoft Excel e JMP from SAS, con test del χ^2 , test esatto di Fisher e t di Student. La scelta di un numero doppio di soggetti controllo, rispetto a quelli sani, è stata determinata dall'esigenza di ridurre al minimo le possibilità che il campione di controllo non fosse rappresentativo dell'intera popolazione e, di conseguenza, l'analisi statistica risultasse inficiata dai caratteri "casualmente" espressi nel campione (biblico un testo di epidemiologia).

L'analisi statistica è stata impostata in modo da mettere a confronto l'influenza di ciascun fattore sull'espressione della malattia. E' stata, inoltre, valutata la possibilità che alcuni fattori come l'età ed il temperamento si esprimessero con effetti diversi nei due sessi, confrontando la diversa distribuzione di tali caratteri nei due sessi. Alcuni dei dati raccolti sono stati categorizzati od accorpati in categorie più ampie al fine di migliorarne le affinità statistiche: l'età dei soggetti, ad esempio, è stata suddivisa in due classi (2-4 anni e 5-7 anni), dopo che l'analisi statistica effettuata su tutte le classi di età non aveva prodotto risultati. Lo stesso procedimento è stato utilizzato per le classi utilizzate per il temperamento, inizialmente classificato in: molto tranquillo / tranquillo / medio / nervoso / molto nervoso e, successivamente, accorpate semplicemente in tranquillo / nervoso, per verificare se la mancanza di significatività statistica della suddivisione precedente fosse dovuta ad una eccessiva dispersione del campione.

RISULTATI

Le tredici scuderie incluse nel campione ospitavano un totale di 327 animali, di cui 171 maschi, 121 femmine e 35 castroni. I cavalli affetti da RML erano 28, 17 dei quali femmine, 9 maschi e 2 castroni. L'incidenza di malattia nel nostro campione è risultata essere dell'8,6%. Sono stati scelti, come soggetti controllo un totale di 56 cavalli, dei quali 37 erano maschi, 12 femmine e 7 castroni. L'analisi statistica dei dati raccolti ha dimostrato che l'incidenza della malattia era significativamente superiore negli animali di sesso femminile rispetto al campione di controllo ($p > 0,0009$ test esatto di Fisher). Al contrario, non è stato possibile registrare alcuna significatività sia nel confronto tra classi d'età che di temperamento dei soggetti affetti e popolazione di controllo. Non è stata evidenziata nessuna differenza né tra la media delle somme vinte né tra le medie dei tempi al km ottenuti dagli animali malati rispetto ai sani, con il test t di Student. E' stata, poi, investigata la possibilità che alcuni caratteri, come l'età dei soggetti colpiti ed il loro temperamento, fossero significativamente correlati al sesso dei soggetti colpiti (maschi/femmine). Non è stato possibile, tuttavia, riscontrare alcuna evidenza statistica di tali correlazioni. Non è stata riscontrata, inoltre, alcuna correlazione statistica tra la malattia e gli altri fattori inseriti nel questionario.

DISCUSSIONE

E' stato ipotizzato che la suscettibilità alla RML, nel purosangue così come nel trottatore, sia ereditaria, ma che l'espressione clinica della patologia sia altamente variabile (MacLaey et al, 1999a); (Collinder et al, 1997) e positivamente correlata a diversi fattori scatenanti. Tuttavia, l'incidenza, le caratteristiche del soggetto ed i fattori manageriali correlati alla sindrome presentano una certa variabilità in studi eseguiti in aree geografiche e su razze differenti.

Tale difformità tra i vari lavori presenti in letteratura può essere attribuita, in una certa misura alle diverse razze incluse nei campioni esaminati, ma anche alla tipologia di lavoro effettuato dai soggetti sottoposti ad indagine, differenziato sia in relazione all'attitudine razziale che ai programmi di allenamento individualmente svolti.

L'incidenza della RML osservata nella nostra casistica (8,6%) risulta superiore sia a quella del 4,9% e del 6,7%, riportate nel PSI rispettivamente da MacLeay (MacLaey et al, 1999b) del 4,9%,) e da McGowan (McGowan et al, 2002), che a quella del 6,1% riferita da Upjohn nei National Hunt (Upjohn et al 2005); l'incidenza valutata nella nostra casistica è, però, sovrapponibile a quella del 7,3%, riferita nei cavalli da polo dallo stesso McGowan (McGowan et al, 2002b) del 7,3%.); Cole (Cole et al, 2004) riporta, invece, un'incidenza del 4,8% su 146 trottatori esaminati ed evidenzia la presenza di differenze nella proporzione di soggetti affetti sia tra gruppi razziali che tra soggetti con livello di impegno differente.

MacLeay (MacLaey et al, 1999b) riscontra una maggiore incidenza della patologia nelle femmine di due o tre anni e dal temperamento nervoso. Analogamente, l'influenza di altri parametri risultati significativi nello studio citato, quali l'alimentazione, il tipo di lavoro, il management ed il dolore associato a zoppie viene attribuita al rilascio di catecolamine ed altri ormoni stress-correlati, in grado di

interferire con il metabolismo muscolare. Tale ipotesi non trova riscontro nei risultati della casistica da noi presentata, nella quale l'incidenza non risulta differire nelle diverse classi di età e di temperamento.

Upjohn e coll. (2005), nel Regno Unito, riportano analoghi risultati in un campione di National Hunt. Gli stessi autori riscontrano l'influenza sull'espressione della malattia di altri fattori, come la distanza percorsa e il tipo di allenamento, che non sono risultati significativi nella nostra casistica.

Concordemente con i risultati citati in letteratura, anche nel nostro campione è possibile rilevare una netta prevalenza delle femmine tra gli animali malati rispetto ai sani. Sebbene non siano ancora stati chiariti i meccanismi per i quali il sesso femminile sia maggiormente colpito, è stato dimostrato, attraverso studi genetici nel purosangue, che la trasmissione della patologia è da attribuirsi ad un gene autosomico e non sessuale (MacLaey et al, 1999a). Gli stessi autori attribuiscono la maggiore incidenza della patologia, nelle femmine di 2 e 3 anni, al temperamento più nervoso di tale classe di soggetti rispetto al resto della popolazione. E' possibile che la diversa significatività da noi riscontrata, rispetto a quanto riportato in soggetti di razza PSI e da poloaffetti da RML. Il sesso sembra essere, quindi, l'unico fattore di rischio riconosciuto da tutti gli autori citati, sebbene non sia ancora stata fornita una spiegazione documentata che giustifichi la diversa distribuzione della malattia in relazione al sesso.

Lo studio della genealogia di soggetti affetti, nel purosangue inglese, identifica per la RML una trasmissibilità di tipo autosomico dominante; se questo dato si confermasse nelle altre razze, la maggiore incidenza nel sesso femminile non avrebbe origine genetica (MacLaey et al, 1999a).

La correlazione tra RML e alterazione dei meccanismi di regolazione del calcio a livello muscolare è oggetto di ricerca (Ward et al, 2000) (Lentz et al, 2002) ed è nota,

al tempo stesso, la possibile interferenza dei livelli estrogenici con il metabolismo del calcio e la contrattilità (Giuberti et al, 2007). Anche se non è stata identificata una correlazione tra livelli sierici del CK e concentrazioni plasmatiche estrogeniche (Fraunenfelder et al, 1986), variazioni delle concentrazioni ematiche degli ormoni sessuali potrebbero essere responsabili della insorgenza della sintomatologia, in presenza di una predisposizione. In medicina umana, diversi studi suggeriscono che gli estrogeni abbiano un'azione protettiva sulle cellule muscolari striate, in base al loro effetto antiossidante e stabilizzante. Gli estrogeni sarebbero, inoltre, in grado di interferire con i tempi di attivazione delle cellule satellite dalla cui differenziazione trae origine il processo di rigenerazione e riparazione del tessuto muscolare, sia modulando l'attivazione dei granulociti neutrofilici che interferendo con la produzione di NO. Ancora meno noto è il significato del progesterone nei processi miopatici e nella guarigione del tessuto muscolare danneggiato (Sotiriadou et al, 2003; Tiidus, 2005),

Valutazioni endocrine seriate su soggetti di sesso femminile affetti da RML potrebbero consentire di verificare l'eventuale corrispondenza tra episodi di recidiva della sintomatologia e fasi del ciclo estrale.

Alcuni autori attribuiscono un notevole significato al temperamento dell'animale come fattore di rischio per la RML (MacLaey et al, 1999b; McGowan et al, 2002b), E' possibile che la diversa significatività dell'indole dell'animale sull'incidenza della RML, riscontrata nel nostro campione di trottatori, rispetto a quanto riportato in soggetti di razza PSI e da polo, sia da correlare al temperamento notoriamente più docile e meno nevrotico dei soggetti di questa razza. Analogamente, una maggiore uniformità nei programmi di lavoro e di allenamento tra le scuderie esaminate nel nostro campione potrebbe giustificare l'assenza di significatività dei fattori gestionali sull'incidenza della RML.

Il diverso significato e l'importanza variabile degli stessi fattori di rischio esaminati in bibliografia in popolazioni di cavalli differenti per razza e sede geografica insieme con l'imprevedibile risposta dei singoli casi trattati con protocolli terapeutici e programmi di allenamento standardizzati fanno ipotizzare che le manifestazioni cliniche della rabdomiolisi siano comuni a patologie muscolari differenti, solo alcune delle quali sono state finora compiutamente identificate.

Una migliore comprensione dell'eziopatogenesi della sindrome rabdomiolisi nel cavallo sportivo, mediante impiego su ampia scala di mezzi diagnostici complementari, quali l'elettromiografia e l'esame biotico muscolare, con l'individuazione dei deficit metabolici muscolari probabilmente implicati nella genesi della malattia, potrebbe chiarire le differenze riportate in letteratura nella significatività dei fattori di rischio esaminati.

Conclusioni

La rabdomiolisi da sforzo rappresenta una delle più frequenti cause di scarso rendimento del cavallo in attività agonistica, all'origine pertanto di danni economici rilevanti nell'allevamento dei cavalli sportivi.

Tale considerazione giustifica i molteplici sforzi messi in atto, finora, per identificare i diversi meccanismi eziopatologici che ne determinano l'insorgenza e istituire idonei protocolli di trattamento. In assenza di una chiara definizione eziopatogenetica della patologia sono stati proposti, finora terapie fondate prevalentemente su considerazioni scientifiche deboli e non convalidate.

Negli ultimi anni, invece, l'approccio scientifico alla sindrome e lo studio delle patologie muscolari del cavallo hanno assunto maggiore rilevanza, iniziando ad essere condotte con maggiore rigore. La conseguente identificazione e classificazione di diverse miopatie del cavallo, l'utilizzo di tecniche diagnostiche avanzate, gli studi di genetica molecolare, insieme con le più approfondite conoscenze raggiunte nel campo della fisiologia e medicina sportiva hanno permesso di individuare, trattare o prevenire molte cause di rabdomiolisi.

Molti aspetti della sindrome rimangono, tuttavia, sconosciuti e le prospettive terapeutiche attuali, in alcuni casi, non risultano adeguate soprattutto alle aspettative economiche di allevatori e proprietari.

Bibliografia

1. Beech J. Chronic exertional rhabdomyolysis. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 1997 Apr;13(1):145-68.
2. Beech J. Equine muscle disorders 2. *Equine veterinary education* 2001; 12: 281-286.
3. Cole FI, Mellor DG, Hodgson DR, Reid SW. Prevalence and demographic characteristic of exertional rhabdomyolysis in horses in australia. *Veterinary record* 2004 155 625-630;
4. Collinder e, Lindholm a, Rasmuson M. Genetic markers in standardbred trotter susceptible to the rhabdomyolysis syndrome. *Equine veterinary journal* 1997 29 2 117-120
5. De La Corte FD, Valberg SJ, MacLeay JM, et al. The effect of feeding a fat supplement to horses with polysaccharide storage myopathy. *World Equine Vet Rev* 1999;4:12–19.
6. Dranchak PK, Valberg SJ, Onan GW, Gallant EM, Binns MM, Swinburne JE, Mickelson JR. Exclusion of linkage of the RYR1, CACNA1S, and ATP2A1 genes to recurrent exertional rhabdomyolysis in Thoroughbreds. *Am J Vet Res.* 2006 Aug;67(8):1395-400.
7. Dubowitz Victor e A Sewry Caroline *MUSCLE BIOPSY - CHAPTER 3* pp 41-74; ELSEVIER SAUNDERS third edition 1997
8. Edwards JTG, Newton JR, Ramazan PH, Pilsworth RC, Shepaerd MC. The efficacy of dantrolene sodium in controlling exertional rhabdomyolysis in the thoroughbred racehorse. *Equine veterinary journal* 2003 35 707-710

9. Firshman AM, Valberg SJ, Finno C, et al. Epidemiological aspects of polysaccharide storage myopathy (PSSM) in Quarter Horse. *Am J Vet Res* 2003.
10. Frauenfelder HC, Rosedale PD, Ricketts SW, Allen WR. Changes in serum muscle enzyme levels associated with training schedules and stage of the oestrous cycle in Thoroughbred racehorses. *Equine Vet J*. 1986. 18(5):371-4.
11. Giuberti K, Pereira RB, Bianchi PR, Paigel AS, Vassallo DV, Stefanon I Influence of ovariectomy in the right ventricular contractility in heart failure rats. *Arch Med Res*. 2007 38 (2):170-5.
12. Harkins JD, Morris GS, Tulley RT, et al. Effect of added dietary fat on racing performance in Thoroughbred horses. *J Equine Vet Sci* 1992;12:123–129.
13. Holland JL, Kronfeld DS, Meacham TN. Behavior of horses is affected by soy lecithin and corn oil in the diet. *J Anim Sci* 1996;74: 1252–1255
14. Jamison, J.M., Baird, J.D., Smith-Maxie, L.L. and Hurland, T.J., 1987. A congenital form of myotonia with dystrophic changes in a quarterhorse. *Equine veterinary journal* 1987; 19: 353-358.
15. Jeffcott LB, Rosedale PD, Freestone J et al. An assessment of wastage in thoroughbred racing from conception to 4 years of age. *Equine vet j* 1982 14 185-198.
16. Lentz LR, Valberg SJ, Herold LV, Onan GW, Mickelson JR, Gallant EM, Myoplasmic calcium regulation in myotubes from horses with recurrent exertional rhabdomyolysis. *American Journal of Veterinary Research* 2002, 63 (12), 1724-1731.

17. Lopez JR, Linares N, Cordovez G and Terzic A. Elevated myoplasmic calcium in exercise-induced rhabdomyolysis. 1995 Pflugers Arch. Eur J Physiol 430: 293-295,.
18. MacLaey JM, Valberg SJ, Sorum SA, Sorum MA, Kassube T, Santschi EM, Mickelson JR, Geyer CJ. Heritability of recurrent exertional rhabdomyolysis in thoroughbred racehorse. 1999a Ajvr 60 2 250-255
19. MacLeay J.M. Capitolo 9. DISEASE OF THE MUSCULOSKELETAL SYSTEM. In Bayly WM, Sellon DC, Equine Internal Medicine, 2nd Edition. Reed SM, Saunders 2004 pp461-522
20. MacLeay JF, Sorum SA, Valberg SJ, Marsh WE, Sorum MD. Epidemiologic analysis of factors influencing exertional rhabdomyolysis in thoroughbreds. Ajvr 1999b 60 12 1562-1566
21. McGowan C, Fordham T, Christley RM. Incidence and risk factors for exertional rhabdomyolysis in thoroughbred racehorses in the united kindom. The veterinary record. 2002a; 23: 623-626
22. McGowan, C.M., Posner, R.E., Christley, R.M. Incidence of exertional rhabdomyolysis in polo horses in the USA and the United Kingdom in the 1999/2000 season, 2002b. Veterinary Record 150:535-537,
23. McKenzie EC, Valberg SJ, Godden MG, Pagan JD, MacLeay GD, Geor RJ, Carlson GP. Effect of Dietary Starch, Fat, and Bicarbonate Content on Exercise Responses and Serum Creatine Kinase Activity in Equine Recurrent Exertional Rhabdomyolysis *Vet Intern Med* 2003;17:693
24. Meyer TS, Fredde Mr, cox Jh Erickson HH. Hyperkalemic periodic paralysis in horses: a reiew. Equine Veterinary Journal 1999; 31: 362-367.

25. Montagna P., Liguori R, Monari L, Strong PN, Riva R, Di stasi V, Gandini G, Cipone M. Equine muscular dystrophy with myotonia. *Clinical Neurophysiology* 2001; 112 (2); 294-299
26. Muylle E., Hende V. D., Nuytten J., Deprez P, Oyaer W. Potassium concentration in equine red blood cells: Normal values and correlation with potassium levels in plasma. *Equine Vet. J.* (1984). 16: 447-449.
27. Nollet H., Deprez P. Hereditary skeletal disease in the horse. A review. *Veterinary Quarterly* 2005; 27: 65-75.
28. Reeben M, Koho NM, Raekallio M, Hyypä S, Pösö AR MCT1 and CD147 gene polymorphisms in standardbred horses *Equine Vet J Suppl.* 2006 Aug;(36):322-5
29. Render JA, Common RS, Kennedy FA, Jones MZ, Fyfe JC: Amylopectinosis in Fetal and Neonatal Quarter Horses. *Vet Pathos* 1999 36:157-160.
30. Ross M Et Al *Histology - A Text And Atlas* 4Th Edition (2002), Lippincott Williams & Wilkins
31. Scholte, H R : Verduin, M H : Ross, J D : Van den Hoven, R : Wensing, T : Breuking, H J : Meijer, A E. Equine exertional rhabdomyolysis: activity of the mitochondrial respiratory chain and the carnitine system in skeletal muscle. *Equine-Vet-J.* 1991 Mar; 23(2): 142-4.
32. Sotiriadou S, Kyparos A, Mougios V, Trontzos Ch, Sidiras , Matziari Ch. Estrogen Effect on Some Enzymes in Female Rats after Downhill Running. *Physiology Research.* 2003 52: 743-748,
33. 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
34. Tidus PM. Oestrogen and sex influence on muscle damage and inflammation: evidence from animal models. *Current opinion clinical nutrition and metabolic care*. 2001 4: 509-513.
35. Tidus PM. Can oestrogen influence skeletal muscle damage, inflammation, and repair? *British Journal of Sports Medicine* 2005 39;251-253
36. Upjohn MM, Archer RM, Christley RM, McGowan CM. Incidence and risk factors associated with exertional rhabdomyolysis syndrome in National Hunt racehorses in Great Britain. *Vet Rec*. 2005 156 (24):763-6.,
37. 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.
38. 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.
39. 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.
40. 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.

41. Valberg, SJ, Ward, TL, Rush, B, Kinde, H, Hiraragi, H et al. Glycogen branching enzyme deficiency in Quarter Horse foals. *J Vet Intern Med* (2001) 15: 572-580.
42. Valentine BA, Hintz HF, Freels KM, et al. Dietary control of exertional rhabdomyolysis in horses. *J Am Vet Med Assoc* 1998;212: 1588–1593
43. Valentine BA, Reynolds AJ, Ducharme NG, et al. Dietary therapy of equine polysaccharide storage myopathy. *Equine Pract* 1997; 19:30–37.
44. Valentine BA, Van Saun RJ, Thompson KN, et al. Role of dietary carbohydrate and fat in horses with equine polysaccharide storage myopathy. *J Am Vet Med Assoc* 2001;219:1537–1544
45. Valentine BA: Polysaccharide storage myopathy in draft and draft-related horses and ponies. *Equine Pract* 1999 21:16-19
46. Van den Hoven, R : Breukink, H J : Vaandrager Verduin, M H : Scholte, H R : Meijer, A E Normal resting values of plasma free carnitine and acylcarnitine in horses predisposed to exertional rhabdomyolysis *Equine-Vet-J.* 1989 Jul; 21(4): 307-8 .
47. Ward, T L : Valberg, S J : Gallant, E M : Mickelson, J R. Calcium regulation by skeletal muscle membranes of horses with recurrent exertional rhabdomyolysis. *Am-J-Vet-Res.* 2000 Mar; 61(3): 242-7
48. Westermann CM, de Sain-van der Velden MGM, Van der Kolk GM, Berger R, Wijnberg ID, Koeman JP, Wanders RJA, Lenstra JA, Testerink N, Vaandrager AB, Vianey-Saban C, Acquaviva-Bourdain C, Dorland L. Equine biochemical multiple acyl-CoA dehydrogenase deficiency (MADD) as a cause of rhabdomyolysis. *Mol Genet Metab.* 2007 May 29; : 17540595.