

IL RUOLO DELLE TECNICHE ISTOLOGICHE, ISTOENZIMATICHE ED IMMUNOISTOCHIMICHE NELLA DIAGNOSI DELLE PATOLOGIE NEUROMUSCOLARI DEL CAVALLO E DEL CANE

CANTONI A.M., DI LECCE R., CORRADI A.

*Istituto di Anatomia Patologica Veterinaria - Facoltà di Medicina Veterinaria
Università degli Studi di Parma*

Il normale funzionamento del muscolo condiziona il coordinamento dei movimenti e della la postura e dipende dall'azione sinergica di strutture anatomiche diverse quali le fibre muscolari, la giunzione neuromuscolare ed il motoneurone composto da un corpo cellulare e da un assone che si estende lungo il nervo periferico.

Uno squilibrio morfofunzionale nei rapporti di queste strutture anatomiche determina, come segno clinico primario, un indebolimento muscolare, evidente tanto nelle patologie di origine neurogena che in quelle di origine miogena.

La diagnosi delle malattie neuromuscolari si avvale di esami anamnestici (nel cane alcune miopatie sono specifiche di determinate razze) e clinici accurati, di test ematologici e biochimici (in cui si valuta l'attività di diversi enzimi sierici del muscolo) ed elettromiografici, ma spesso la biopsia muscolare diventa un mezzo indispensabile per confermare o differenziare il tipo di affezione muscolare.

Com'è noto la biopsia muscolare è una procedura relativamente semplice e di grande aiuto nella diagnostica della patologia neuromuscolare, sia in campo umano che veterinario (23).

Nel cavallo e nel cane lo studio del muscolo scheletrico prelevato biotticamente permette di rilevare se un'atrofia muscolare progressiva sia primitiva o secondaria ad un danno nervoso periferico:

- di determinare l'entità e la gravità del danno muscolare nelle miositi, nella rbdomiolisi e nelle miopatie da decubito;
- di valutare se l'incremento dei diametri fibrili dipenda dall'esercizio o da una condizione miopatica;
- di identificare l'eventuale deficit metabolico specifico di un muscolo;
- di diagnosticare le malattie del tessuto connettivo e dei vasi sanguigni;
- di individuare le future potenzialità atletiche dell'animale, determinando le percentuali dei tipi di fibre che compongono diversi muscoli scheletrici (3, 24).

La scelta del muscolo da sottoporre a biopsia si basa sulla distribuzione della debolezza muscolare e sull'estensione dell'atrofia e segue alcuni criteri (3, 24):

- 1) Il muscolo deve essere affetto da una patologia neuromuscolare, anche se non deve essere totalmente atrofico o gravemente interessato da processi flogistici acuti, poichè in tali condizioni difficilmente si possono avere utili informazioni diagnostiche;

- 2) il prelievo bioptico va eseguito in una zona dove non vi siano grossi vasi sanguigni, nervi periferici, tendini o giunture;
- 3) I campioni devono essere prelevati da muscoli per i quali sono noti valori morfometrici di riferimento;
- 4) Il campione bioptico dovrebbe essere prelevato sempre nella stessa regione anatomica, essendo documentato come, nel cavallo e nel cane, la distribuzione delle fibre muscolari vari all'interno dello stesso muscolo, passando da una zona superficiale ad una più profonda (27);
- 6) Il prelievo non deve causare grossi disagi post-operatori.

Nel cavallo sono sottoposti a biopsia il m. gluteo medio, il m. bicipite femorale, il m. semimembranoso, il m. semitendinoso ed il m. tricipite brachiale, quando sono colpiti da malattie neuromuscolari i muscoli prossimali degli arti toracico e pelvico, mentre se sono interessati i muscoli distali che flettono ed estendono gli arti, sono più facilmente aggredibili il m. estensore radiale del carpo e il m. estensore lungo delle dita (4).

Nel cane la maggior parte dei muscoli degli arti e della testa sono facilmente accessibili per un prelievo bioptico e solitamente vengono prelevati quei muscoli per i quali sono disponibili dei dati qualitativi e quantitativi di riferimento (12).

Nell'arto pelvico vengono prelevati di preferenza i muscoli bicipite femorale e vasto laterale nel terzo distale; il capo laterale del m. gastrocnemio ed il m. tibiale craniale a livello del terzo prossimale.

Nell'arto toracico invece il capo lungo e il capo mediale del tricipite brachiale vanno prelevati nel terzo distale, mentre il m. flessore superficiale delle dita viene prelevato prossimalmente (24).

Nel cavallo i prelievi bioptici muscolari sono effettuati soprattutto per via percutanea, utilizzando l'ago da biopsia ideato da Bergstrom nel 1962 (1).

Questa tecnica permette, praticando solo una piccola incisione della cute e delle fasce sottostanti, di introdurre nel muscolo l'ago da biopsia e dopo aver applicato una certa pressione, di prelevare parallelamente alle fibre muscolari, piccole porzioni di tessuto muscolare (3 mm di diametro ed 1 cm di lunghezza). Questo metodo è semplice, rapido e la guarigione della ferita avviene in pochi giorni senza complicazioni locali (2, 6).

Nel cane è preferibile praticare la biopsia muscolare con la tecnica a "cielo aperto", in anestesia generale, dopo aver effettuato le prove elettrodiagnostiche (elettromiografia e determinazione della velocità di conduzione del nervo) e per evitare artefatti, il campione va prelevato nelle zone in cui non sono posizionati gli elettrodi (24).

La sede bioptica, dopo essere stata preparata chirurgicamente, viene incisa per 5-6 cm, separando pelle e fasce sottostanti per esporre il muscolo. Afferrato con pinze il segmento di muscolo, si preleva un campione cilindrico (approssimativamente di 1.5 cm di lunghezza, 1 cm di larghezza e di 1 cm di spessore, con fibre orientate longitudinalmente attraverso la lunghezza del cilindro). Effettuato il prelievo si suturano le fasce e la cute.

Non devono essere applicate delle tecniche particolari per tenere il campione muscolare in tensione per l'istologia di routine e per l'istoenzimologia, mentre è molto importante una leggera tensione per la microscopia elettronica (per questo scopo vanno usate delle speciali pinze per la biopsia) (7).

In contrasto con la biopsia per via percutanea, la tecnica bioptica a “cielo aperto” è più idonea per un adeguato campionamento di tessuto muscolare e facilita le procedure di congelamento e sezionamento (3).

I campioni bioptici dopo il prelievo vanno coperti con garza inumidita con soluzione fisiologica e per evitare la perdita di enzimi solubili, devono essere congelati entro un'ora dal prelievo; tuttavia, nei campioni refrigerati si mantengono invariate per almeno 12-24 ore le proprietà cito e istoenzimatiche.

I frammenti bioptici, posti su fette sottili di sughero ed orientati per essere sezionati nei piani trasversali e longitudinali, sono congelati attraverso l'immersione in isopentano raffreddato a -170°C in azoto liquido, per diversi secondi (30 sec-1 min.); questo evita la formazione di macro cristalli di ghiaccio e consente di mantenere una struttura morfologica simile a quella presente in vivo; inoltre vengono preservate le attività enzimatiche, che potranno essere evidenziate e studiate.

Il frammento bioptico può essere avviato immediatamente alle indagini istologiche, istoenzimatiche, immunoistochimiche ed anche ultrastrutturali o conservato per lungo tempo in un congelatore a -80°C (26).

METODI ISTOLOGICI ED ISTOCHIMICI

Le colorazioni istologiche maggiormente utilizzate su sezioni criostatiche per evidenziare la morfologia del tessuto muscolare, sono l'ematossilina-eosina, la tricromica modificata di Gomori e la Verhoeff-Van Gieson (11).

Queste colorazioni mostrano la struttura delle fibre muscolari, del tessuto connettivo, dei vasi sanguigni e dei nervi.

La tricromica modificata di Gomori differenzia le fibre muscolari, il tessuto connettivo e le componenti vascolari e nervose, evidenziando alterazioni patologiche a carico di queste strutture. Inoltre con questa colorazione istologica è già possibile distinguere due tipi di fibre muscolari, essendo le fibre di tipo I caratterizzate da una colorazione di fondo leggermente più scura, che rappresenta la rete intermiofibrillare (10).

La Verhoeff-Van Gieson evidenzia non solo il tessuto connettivo interfibrillare, ma anche la mielina dei nervi periferici e l'elastina dei vasi, mentre i mitocondri e la rete intermiofibrillare appaiono visibili nelle sezioni trasversali come una fine punteggiatura nera (11).

Per studiare il substrato energetico utilizzato dal muscolo per l'attività contrattile, si applicano colorazioni istochimiche che evidenziano i lipidi ed i glucidi della fibra muscolare.

Con il Sudan black B o l'Oil Red O si possono evidenziare modificazioni del contenuto lipidico intrafibrillare in aumento nella miastenia grave, nella miopatia corticosteroidica, nella neuromiopia diabetica e nella miopatia da deficit di carnitina.

Con la PAS reazione si valuta il contenuto glicidico delle fibre muscolari, che appare aumentato nelle glicogenosi muscolari o deficitario nelle miopatie ereditarie metaboliche (27).

METODI ISTOENZIMATICI

L'impiego routinario delle tecniche istoenzimatiche nello studio del muscolo prelevato biotticamente si è rilevato di estrema importanza per un corretto inquadramento diagnostico delle patologie neuromuscolari dell'uomo e degli animali domestici (13, 15, 26).

I metodi istoenzimatici permettono un'analisi approfondita di alcuni parametri anatomo-funzionali dell'unità motoria non evidenziabili con i metodi istologici:

- a) determinazione dei diametri dell'uno o dell'altro tipo fibrale, che possono essere alterati in diversi quadri morbosi;
- b) determinazioni quantitative nei riguardi del rapporto numerico fra i vari tipi di fibre;
- c) analisi della organizzazione topografica delle fibre muscolari per valutare la fisiologica distribuzione a mosaico delle fibre, che può essere alterata in svariate affezioni muscolari;
- d) evidenziazione di cambi strutturali del muscolo non evidenziabili con metodi istologici.

Gli enzimi di maggior interesse nello studio del tessuto muscolare sono quelli connessi con la glicogenosintesi e la glicogenolisi come la fosfofruttochinasi e la fosforilasi; le ossidoreduttasi (diverse deidrogenasi legate al ciclo di Krebs) e le idrolasi (adenosintrifosfatasi) e varie esterasi (11).

La fosforilasi è un enzima citoplasmatico che regola il metabolismo del glicogeno, infatti stacca una molecola di glucosio dal glicogeno sotto forma fosforilata, già pronta per essere utilizzata in varie vie metaboliche. Nelle sezioni criostatiche è possibile svelare l'eventuale assenza di questo enzima, quando si osservano accumuli di materiale PAS positivo a livello della regione subsarcolemmale delle fibre muscolari.

Le ossidoreduttasi comprendono un gruppo esteso di enzimi che catalizzano l'ossidazione di vari substrati producendo energia per il metabolismo cellulare e tissutale.

Il principio delle tecniche istoenzimatiche per le deidrogenasi è l'uso di un colorante solubile (il nitroblutetrazolio) che intercetta l'idrogeno in alcuni punti lungo la catena respiratoria ed è ridotto ad un colore più profondo, producendo formazioni insolubili, che si depositano dov'è il sito dell'attività enzimatica.

Tra gli enzimi ossidativi assumono particolare importanza: la succinodeidrogenasi (SDH) enzima puramente mitocondriale, entra nel ciclo di Krebs ed il suo rilievo è un indice della sua attività; la tetrazolio-reduttasi (NADH-TR: nicotin-adenin-dinucleotide tetrazolio-reduttasi), presente nei mitocondri e nel reticolo endoplasmatico dove si trova solidamente ancorata.

Lo studio di queste attività enzimatiche permette di differenziare le fibre di tipo I, che reagiscono intensamente, le fibre di tipo IIA con una attività intermedia, mentre le fibre di tipo IIB presentano una debole reattività. La caratteristica distribuzione reticolare di questi enzimi può apparire scompagnata sia nelle miopatie primitive, che in quelle secondarie.

Al gruppo delle idrolasi appartengono diverse ATPasi presenti nei tessuti animali, che differiscono non solo per la loro localizzazione, ma anche per le loro proprietà biochimiche e che sono responsabili della degradazione fisiologica dell'ATP.

Il rilievo dell'ATPasi miofibrillare calcio dipendente è di fondamentale importanza per l'identificazione e la classificazione dei tipi di fibre muscolari che compongono i muscoli scheletrici sia dell'uomo che degli animali.

Basandosi sull'attività dell'ATPasi miofibrillare, Engel sostenne un sistema di due tipi fibrili (10):

- FIBRE di TIPO I o fibre rosse, a contrazione lenta, ad alto contenuto in mioglobina, resistenti allo sforzo protratto, con numerosi mitocondri ed un'elevata attività per gli enzimi ossidativi; ricche in lipidi, con poco glicogeno e scarsa attività fosforilasi.

- FIBRE di TIPO II o fibre bianche, a contrazione rapida, scarsamente resistenti alla fatica, con una ridotta attività enzimatica ossidativa ed un'elevata attività per l'ATPasi miofibrillare, contengono molto glicogeno e pochi lipidi.

Brooke e Kaiser, in base alla lability dell'ATPasi miofibrillare a diversi pH, differenziarono le diverse forme intermedie che si pongono tra le fibre di tipo I e di tipo II (10):

- FIBRE di TIPO IIA, glicolitiche ed ossidative, con caratteristiche fisiologiche e metaboliche intermedie tra le fibre di tipo I e IIB;

- FIBRE di TIPO IIB, con proprietà esclusivamente glicolitiche;

- FIBRE di TIPO IIC, ritenute fibre ancora immature capaci di differenziarsi in fibre di tipo IIA o IIB, presenti nel muscolo neonatale ed in percentuali < al 2% nel muscolo degli animali adulti.

Con l'ATPasi miofibrillare a pH 9,4 le fibre di tipo I hanno una bassa attività ATPasica ed appaiono chiare, mentre le fibre di tipo II, presentando un'alta attività ATPasica, si colorano intensamente; previa incubazione a pH 4,3 si ha una completa inversione del pattern enzimatico per cui le fibre di tipo II risultano chiare e le tipo I sono scure.

Per la ricerca dei sottotipi si fa ricorso alla stessa tecnica, previa incubazione a diversi pH acidi (da pH 4,5 a 3,9); in questo modo le fibre di tipo I mostrano una forte attività ATPasica, mentre le tipo II si differenziano in fibre di tipo IIA a debole attività ATPasica e fibre di tipo IIB ad attività ATPasica intermedia; a pH 3,9 infine si evidenziano solo le fibre di tipo IIC (11).

Nei muscoli scheletrici del cavallo, sono stati identificati, con le metodiche per l'ATPasi miofibrillare e degli enzimi ossidativi' due popolazioni fibrili (fibre di tipo I e fibre di tipo II) e tre sottotipi fibrili (IIA, IIB e IIC) (4, 5, 6, 9).

Nel cane i muscoli prossimali e distali degli arti sono costituiti soprattutto da fibre di tipo I, IIA e in percentuale inferiore da fibre di tipo IIC, mentre è ancora discussa la presenza di fibre di tipo IIB (12, 13, 20).

Nei muscoli della testa del cane (masseteri e temporali), innervati da branche del nervo trigemino, sono stati individuati due tipi di fibre muscolari, che evidenziano diverse caratteristiche contrattili ed istoenzimatiche:

- a) Fibre di tipo IIM, con attività ATPasica stabile sia a pH acido che alcalino. Hanno proprietà di colorazione simili a quelle delle fibre di tipo IIC, ma con maggior stabilità a pH acido.

- b) Una variante delle fibre di tipo I con attività ATPasica parzialmente reversibile dopo preincubazione in mezzo acido (14, 21).

ALTERAZIONI DEL TESSUTO MUSCOLARE EVIDENZIABILI CON I METODI ISTOLOGICI

In risposta agli stati patologici nel muscolo scheletrico si possono osservare dei cambiamenti istologici nelle fibre muscolari e nel tessuto connettivo quali:

NECROSI e FAGOCITOSI: sono il risultato di numerosi processi patologici. Sono frequenti nelle distrofie muscolari, ma possono esprimere anche processi infiammatori (polimiosite), o alterazioni metaboliche (deficit enzimatici congeniti)

ATROFIA: si ha quando le fibre muscolari sono denervate, o non usate o private del loro apporto sanguigno. L'atrofia più marcata consegue alla denervazione, in cui le fibre si presentano di dimensioni ridotte e con profili angolati. La distribuzione delle fibre atrofiche nel tessuto muscolare consente di differenziare le miopatie primarie da quelle neurogene; nel primo caso la distribuzione delle fibre atrofiche è causale, nel secondo le fibre atrofiche appaiono raggruppate.

IPERTROFIA: nella miotonia congenita si osserva ipertrofia delle fibre di tipo I. Nell'animale atleta l'ipertrofia è diffusa a tutti i tipi di fibre. Nelle distrofie muscolari fibre muscolari ipertrofiche sono frammiste a fibre atrofiche.

"SPLITTING" O DIVISIONE LONGITUDINALE delle FIBRE MUSCOLARI: per rigenerazione difettosa delle fibre muscolari o per suddivisione di fibre ipertrofiche.

FIBRE BASOFILE: sono fibre rigenerate, basofile con nuclei vescicolosi.

FIBRE con NUCLEI CENTRALI: normalmente i nuclei sono localizzati alla periferia della fibra e solo un 2-3% delle fibre presentano nuclei centrali. Questo reperto diventa patologico quando un'alta percentuale di fibre presenta nuclei centralizzati.

INFILTRATI CELLULARI: si osservano nelle miositi idiopatiche autoimmuni, nel corso di patologie infettive o nelle distrofie muscolari.

CISTI PARASSITARIE: nelle fibre muscolari si possono reperire cisti intrafibrili nel corso di malattie parassitarie sostenute da sarcosporidi spp, da toxoplasma spp, da neospora caninum, ecc.

FIBROSI endomisiale e perimisiale e l'INFILTRAZIONE ADIPOSA: si osservano in tutti i processi patologici che comportano una distruzione delle fibre muscolari (per es. nella miopatia dei muscoli masticatori del cane o nelle distrofie muscolari).

ALTERAZIONI DELLE FIBRE MUSCOLARI EVIDENZIABILI CON I METODI ISTOENZIMATICI

Con i metodi istochimici ed istoenzimatici è possibile evidenziare:

DEFICIT di FIBRE di TIPO I o II: nella distrofia muscolare del Labrador o nelle miopatie endocrine (18).

ATROFIA delle FIBRE di TIPO I, nell'atrofia da disuso (24).

ATROFIA delle FIBRE DI TIPO II: nelle miopatie secondarie ad ipotiroidismo e ad ipercorticossurrenalismo (16)

RAGGRUPPAMENTO dei TIPI FIBRALI: caratterizza processi di denervazione e di reinervazione.

FIBRE con strutture bastoncellari (RODS) in sede subsarcolemmale, fibre con un vuoto enzimatico al centro (**CENTRAL CORE**), fibre bersaglio (**TARGET FIBRES**) osservabili generalmente nelle miopatie neurogene, per fenomeni di reinervazione.

DEFICIT ENZIMATICI: caratterizzano miopatie dismetaboliche e miopatie mitocondriali (25).

MORFOMETRIA

Attraverso un analizzatore di immagini si possono determinare le aree, le percentuali ed i diametri dei tipi fibrali. Questi fattori possono variare nello stesso muscolo e tra i muscoli scheletrici dello stesso animale.

Sono stati definiti valori morfometrici normali in diversi muscoli scheletrici del cane e del cavallo, che permettono di identificare le alterazioni che compaiono in seguito a condizioni patologiche (3, 9, 13, 24).

MODIFICAZIONI DEL DIAMETRO MEDIO: sono state evidenziate nel cavallo e nel cane variazioni dei valori diametrali medi dei diversi tipi fibrali correlati all'età, alla razza, al peso dell'animale e negli animali atleti al tipo di allenamento (5). Nel cane il diametro fibrile medio dei muscoli degli arti è di 40-50 micron per cani di peso superiore a 15 Kg e di 30-40 micron nei cani di peso inferiore ai 15 Kg (12).

Nel cavallo l'allenamento induce un aumento dei diametri fibrali e delle aree delle fibre muscolari (8)

PERCENTUALE DEI TIPI DI FIBRA, è determinata da una conta di circa 200-600 fibre nelle sezioni trasversali. E' stato accertato che nel cane le fibre di tipo I predominano nel capo mediale dei muscoli tricipite brachiale e flessore superficiale delle dita, mentre quelle di tipo II nel bicipite femorale, nel capo lungo del tricipite brachiale e nel tibiale craniale. Nei muscoli laringei e nel muscolo buccinatore, predominano le fibre di tipo II (17).

PERCENTUALE DEI NUCLEI CENTRALI, deve essere definita da una conta di circa 200-600 fibre nelle sezioni trasversali. Il numero di fibre con nuclei centrali, nel cane, generalmente non supera l'1% nei muscoli normali degli arti, in quelli laringei e facciali, mentre è dell'8-12% nel muscolo striato esofageo (24).

L'aumento del numero dei nuclei interni si riscontra nella miopia ereditaria del Labrador, nelle miopatie miotoniche dei cani e dei cavalli (3, 25).

FATTORI DI ATROFIA E DI IPERTROFIA: questi fattori derivano dagli istogrammi ed esprimono il numero di fibre muscolari di diametro inferiore o superiore ai valori di normalità, vengono utilizzati per determinare la presenza di atrofia o di ipertrofia muscolare non evidenziabile con un'analisi microscopica non oggettivata da indagine morfometrica (24).

Le indagini **IMMUNOISTOCHEMICHE** sono effettuate soprattutto nella diagnosi delle miopatie di origine autoimmune o delle distrofie muscolari ereditarie quali (24):

- la **MIOSITE** dei Muscoli **MASTICATORI** del cane, in cui si evidenziano depositi di IgG a livello di fibre di tipo IIM (21);
- la **MIASTENIA GRAVE ACQUISITA** del cane, dove è possibile localizzare immunocomplessi a livello di giunzione neuromuscolare (19);
- la **POLIMIOSITE** del cane, in cui sono stati dimostrati depositi di immunoglobuline nella membrana sarcolemmale (20);
- la **DISTROFIA MUSCOLARE DEL CANE** associata al cromosoma X, con la dimostrazione immunoistochimica del deficit di distrofina a livello del sarcolemma (22).

Inoltre sono in via di sviluppo tecniche analitiche biochimiche per l'identificazione, la purificazione e l'isolamento di diversi enzimi, proteine, lipidi, elettroliti nel muscolo e nei nervi. Questi studi permetteranno di applicare procedure microanalitiche alle analisi di routine dei campioni biotici muscolari.

Per concludere possiamo dire che le valutazioni istologiche, istoenzimatiche ed immunoistochimiche e se del caso ultrastrutturali, permettono di addivenire più correttamente e facilmente alla formulazione di una diagnosi di patologia neuromuscolare, alla quale potrà attingere il medico veterinario curante per una terapia mirata e per una più corretta valutazione prognostica.

LE MIOPATIE DEL CANE

MIOSITI

- a) **INFETTIVE** (Clostridi spp, Streptococchi spp, Stafilococchi spp, Leptospira spp, Virus)
- b) **PARASSITARIE** (Toxoplasma spp, Neospora caninum, Hepatozoon, ecc.)
- c) **IMMUNOMEDIATE**

MIOSITE DEI MUSCOLI MASTICATORI (eosinoflica o atrofica)
POLIMIOSITE
DERMATOMIOSITE
MIASTENIA GRAVE ACQUISITA

MIOPATIE EREDITARIE O CONGENITE

DISTROFIA MUSCOLARE DEL GOLDEN RETRIEVERS
MIOPATIA DEL LABRADOR RETRIEVERS
MIOTONIA CONGENITA
MIOTONIA ACQUISITA
MIASTENIA GRAVE CONGENITA
GLICOGENOSI

MIOPATIE METABOLICHE

IATROGENE (STEROIDI)
IPO o IPERCALIEMICHE
SECONDARIE a IPOTIROIDISMO
SECONDARIE a IPERADRENOCORTICISMO

MIOPATIE NUTRIZIONALI

CARENZA di Selenio e di VITAMINA E

**MODIFICAZIONI ISTOLOGICHE ED ISTOENZIMATICHE
EVIDENZIABILI NELLE PATOLOGIE NEUROMUSCOLARI DEL
CAVALLO (3)**

RABDOMIOLISI: edema interstiziale, necrosi di Zenker, masse subsarcolemmatiche (Ca, Glicogeno), fibrosi, ipertrofia (sono colpite primariamente le fibre di tipo II).

MIOTONIA CONGENITA: ipertrofia delle fibre di tipo I, raggruppamento fibrale, atrofia fibrale, nuclei centrali, moderata fibrosi.

PARALISI PERIODICA IPERCALIEMICA: vacuoli nelle fibre di tipo IIB, variabilità dei diametri fibrili, nuclei centrali, necrosi e degenerazione.

ATROFIA NEUROGENA: atrofia fibrale diffusa, variabilità dei diametri fibrili, raggruppamento fibrale, "target fibers".

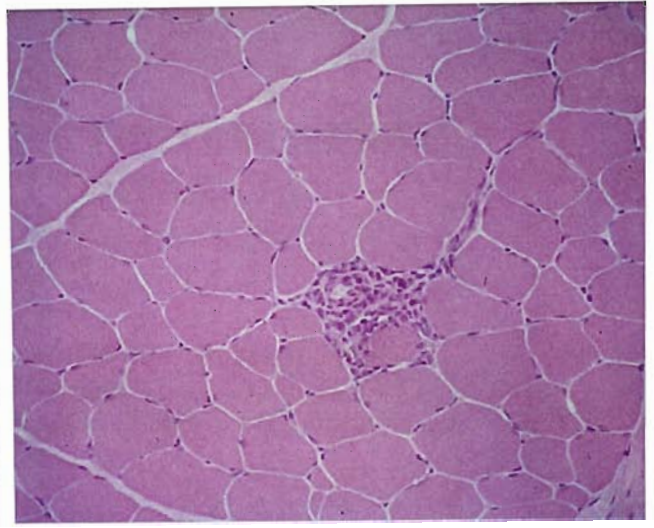
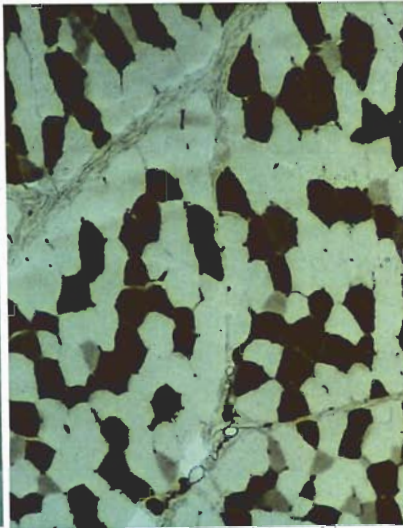
MIOPATIA NUTRIZIONALE DA CARENZA DI SELENIO: necrosi cerea di Zenker, degenerazione, mineralizzazione delle fibre muscolari.

MIOSITI: infiltrati di linfomono o polimorfonucleati, necrosi, fagocitosi, fibrosi peri ed endomisiale, fibre con "central core".

BIBLIOGRAFIA

1. Bergstrom J: Muscle electrolytes in man. *Scand. J. Clin. Invest.*, 1962, 68, 8, Suppl.149,7.
2. Lindholm A., et al: Acute Rhabdomyolysis (Tying-up) in Standardbred Horses. *Acta Vet. Scand.* 15:325-339; 1974.
3. Frank M. Andrews, Stephen M. Reed, Gayle C. Johson: *Muscle biopsy in the horse: its indications, techniques, and complications.* *Veterinary Medicine:* 357-365; 1993.
4. Andrews F.M., Spurgeon T.L.: *Histochemical staining characteristics of normal horse skeletal muscle.* *AJVR* 47: 1843-1852; 1986.
5. Essen B. et al.: *Histochemical properties of muscle fiber types and enzyme activities in skeletal muscles of standardbred trotters of different ages.* *Eq. Vet. J.*:175-180; 1980.
6. Snow D.H., Guy P.S.: *Percutaneous needle muscle biopsy in the horse.* *Eq. Vet. J.* 8(4): 150-155; 1976.
7. McGavin M.D.: *Muscle biopsy in veterinary practice.* *Vet. Clin. North Am. (Sm. Anim. Pract.)* 13:135-144; 1983.
8. Henckel P.: *Training and growth induced changes in the middle gluteal muscle of young standardbred trotters.* *Eq. Vet. J.* 15: 134-140; 1983.
9. Frank M. Andrews, Spurgeon T. L.: *Histochemical staining characteristics of normal horse skeletal muscle.* *AJVR* 47(8): 1843-1852; 1986.
- 10.Engel W.K., Cunningham G.C.: *Rapid examination of muscle tissue. An improved trichrome method for fresh frozen sections.* *Neurology* 1963; 13: 919.
- 11.Dubowitz V.: *Muscle biopsy a practical approach.* Bailliere Tindall, London p3; 1985
- 12.Braund K.G., Hoff E.J., Richardson K.E.Y.: *Histochemical classification of canine skeletal muscle fibers.* *AJVR* 39: 561; 1978.
- 13.Braund K.G., McGuire J.A., Lincoln C.E.: *Observation on normal skeletal muscle of mature dogs-a cytochemical, histochemical and morfometric study.* *Vet. Pathol:* 19: 577; 1982.
- 14.Orvis J.S., Cardinet G.H.: *Canine muscle fibre types and susceptibility of masticatory muscle to myositis.* *Muscle Nerve* 4: 354; 1981.
- 15.Essen B., Lindholm A., Thornton J.:*Histochemical properties of muscle fiber types and enzyme activities in skeletal muscle of standardbred trotters of different ages.* *Equine Vet. J.* 12:175; 1980.
- 16.Braund K.G., Dillon A.R., August J.R., et al.: *Hypothyroid myopathy in two dogs.* *Vet. Pathol.* 18: 589; 1981.
- 17.Braund K.G., Steiss J.E., Marshall A.E., et al.: *Morphologic and morphometric studies of the intrinsic laryngeal muscles in clinically normal adult dogs.* *AJVR* 49: 2105; 1988.
- 18.Braund K.G., McKerrell R.E., Toivio Kinnucan M., et al.: *Limb-girdle muscular dystrophy. Animal model of human disease. Hereditary myopathy in Labrador Retrievers.* *Comp. Pathol. Bull.* 21(2): 2; 1989.
- 19.Pflugfelder C.M., Cardinet G.H., Lutz H., et al.: *Acquired myasthenia gravis: immunocytochemical localization of immune complexes at neuromuscular junctions.* *Muscle Nerve* 4: 289; 1981.

20. Cardinet G.H., Shelton G.D., Willis S.E.: *Type 2 myofiber subtype specific antibodies in a dog with polymyositis and myasthenia gravis*. Anat. Histol. Embryol. 15: 168; 1986.
21. Shelton G.D., Cardinet G.H., Bandman E.: *Canine masticatory muscle disorders: a study of 29 cases*. Muscle Nerve 10: 753; 1987.
22. Cooper B.J., Winand N.J., Stendman H. et al.: *The homologue of the Duchenne locus is defective in X-linked muscular dystrophy of dogs*. Nature 334: 154; 1988.
23. Shelton G.D.: *Differential diagnosis of muscle diseases in companion animals*. PVN Vol.2, n. 1; 1991.
24. Braund K.G.: *Nerve and muscle biopsy techniques*. PVN Vol. 2, n. 1; 1991.
25. Braund K.G.: *Myopathies in dog and cats: reviewing the conditions of unknown and exogenous origin*. Vet. Med., 81:918-928, October 1986.
26. Scarlato G.: *Il ruolo della biopsia muscolare nella diagnosi delle malattie neuromuscolari*. Osp. Magg., vol.76, n. 5, 1981.
27. Bruce V.L., Turek R.J. and W.A. Schurg: *Muscle fibre compartmentalisation in the gluteus medius of the horse*. Equine vet. J.,25 (1), 69-72, 1993.



1
2
Fig. 1/2: Sezione trasversale di muscolo gluteo medio normostrutturato (zona superficiale) di cavallo. Fibre di tipo I in nero, fibre di tipo IIA in grigio pallido, fibre di tipo IIB in grigio. ATPasi miosinica Ca^{++} dipendente pH 4.37, 200X./
Sezione trasversale di muscolo bicipite femorale normostrutturato di cane. Si osservano fibre di tipo I in nero, IIA in grigio pallido e IIC in grigio. ATPasi miosinica Ca^{++} dipendente pH 4.3, 100X.

Fig. 3: Necrosi e fagocitosi miofibrile, muscolo bicipite femorale di cane. Ematossilina - eosina, 200X.

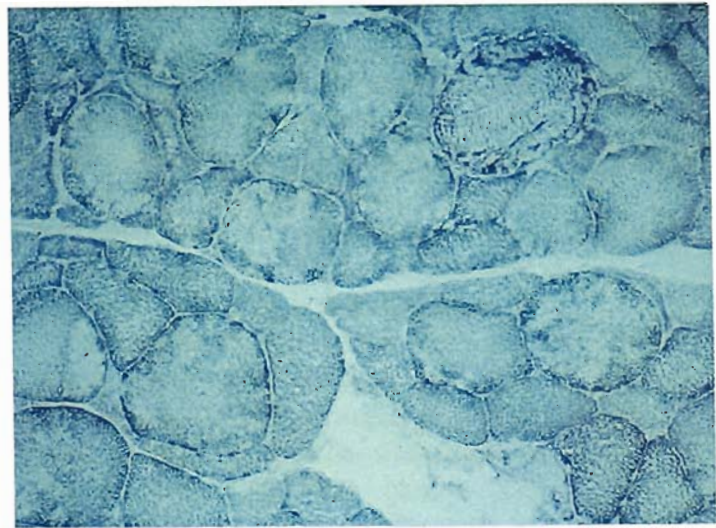


Fig. 4: Ipertrofia delle fibre di tipo I (fibre scure) ed atrofia delle fibre di tipo II nel muscolotibiale e craniale di cane con miopatia neurogena. ATPasi miosinica Ca^{++} dipendente pH 4.3, 200X.

Fig. 5: Ipertrofia ed alterata distribuzione reticolare degli enzimi ossidativi nelle fibre di tipo I nel muscolo tibiale craniale di cane, con miopatia di origine neurogena. NADH - tetrazoloreduktasi, 200X.

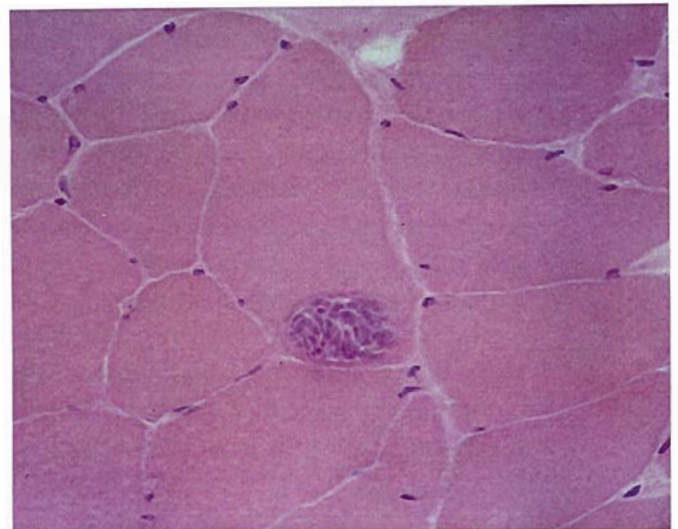
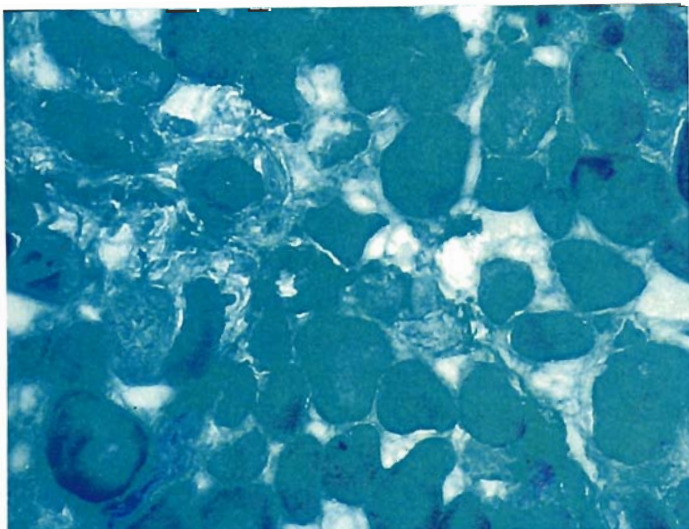


Fig. 6: Rabdomiolisi nel muscolo bicipite femorale di cavallo. Tricromica modificata di Gomori, 200X.

Fig. 7: Cisti protozoaria nel muscolo gluteo medio di cavallo. Ematossilina - eosina, 400X.