Le miopatie congenite nel gatto: review della letteratura e descrizione di un caso di miopatia x-linked con eccesso di autofagia

Olga Marrone DVM; Teresa Bruna Pagano DVM, MS; Gerardo Fatone DVM, PhD; Orlando Paciello DVM, PhD, MS.

Laboratorio di Patologia Muscolare Comparata - Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali
Università degli Studi di Napoli Federico II

SUMMARY

Congenital myopathies in cat: description of a case of X-linked myopathy with excess autophagy

The purpose of the present work was to carry out a careful review of the literature about congenital feline myopathies and describe a new form of myopathy in cat. We report a case of autophagic vacuolar myopathy in a female cat, 1 year old, with progressive muscle weakness, muscle atrophy and severe myalgia, occurred since the age of 8 months. Hematobiochemical analysis showed an increase in serum levels of muscle enzymes; electromyography showed myopathic discharges with normal nerve conduction. A muscle biopsy was processed for histological and histoenzymatical stains and immunohistochemistry using antibodies against sarcolemmal proteins such as dystrophin, sarcoglycans, dystroglycans, merosin, and some autophagic markers such as LAMP-2, Beclin 1, LC3 and VMA21.

Morphological analysis revealed the presence of cytoplasmic vacuoles, many of which were positive for the markers of autophagy. Ultrastructural examination of the pathological myofibers showed two different types of intracytoplasmic vacuoles corresponding to pre-autophagosomes and autophagosomes.

These findings allowed us to make a diagnosis of autophagic vacuolar myopathy similar to the "X-linked myopathy with excessive autophagy" that occurs in humans.

KEY WORDS cat; myopathy; autophagy.

PAROLE CHIAVE gatto; miopatia; autofagia.

INTRODUZIONE

Da anni a questa parte, negli animali domestici si stanno riscontrando, in maniera crescente, patologie muscolari ereditarie, analogamente a quanto succede nell'uomo. Tali patologie possono insorgere all'atto della nascita oppure tardivamente, dopo mesi od anni. Tuttavia, la classificazione di esse non risulta facile, poiché necessitano di approfondimenti diagnostici accurati e spesso costosi e, inoltre, alcuni fattori genetici richiedono la compartecipazione di numerose condizioni predisponenti, generalmente ambientali e/o alimentari, che rendono insidioso affermare con certezza la reale responsabilità genetica di una malattia.

Nella specie felina sono state descritte, ad oggi, diverse miopatie congenite ed ereditarie, che qui di seguito riporteremo:

- *Distrofia muscolare ipertrofica felina (HFMD):* miopatia congenita legata al cromosoma X, caratterizzata da un deficit di distrofina (sia a livello di muscolo striato scheletrico che cardiaco) per una mutazione-transizione del gene che codifica quest'ultima. L'aspetto più interessante di tale distrofia nella specie felina risiede nel fatto che essa viene definita "ipertrofica"; infatti, la massa muscolare risulta ben conservata e il muscolo non perde la capacità di generare forza, a differenza del cane e dell'uomo, in cui si osserva una progressiva atrofia delle miofibre ed un indebolimento delle masse muscolari (Watchko et al., 2002). Inoltre, nel gatto non si verifica infiltrazione fibro-adiposa per cui si parla di una vera e propria ipertrofia e non di pseudo- ipertrofia, tipiche del cane e dell' uomo dove l'infiltrazione fibro-adiposa è marcata. L'ipertrofia, pur essendo generalizzata, è particolarmente evidente nei muscoli

della lingua, del collo, del tronco, degli arti e del diaframma. I gatti affetti da HFMD sono riluttanti al movimento e spesso si notano, tra gli atteggiamenti particolari ed i segni clinici, andatura rigida, adduzione dei garretti, protrusione linguale, rigurgito, cardiomiopatie.
All'esame sierologico sono notevolmente aumentate CK, AST e ALT. L'esame EMG mostra alterazioni caratteristiche. I reperti istologici sono rappresentati da disomogeneità delle dimensioni delle miofibre, diminuzione delle miofibre di tipo I e IIA. Sono sempre presenti fenomeni segmentali di degenerazione ialina, che preludono alla necrosi con fagocitosi di frammenti sarcoplasmatici, alla mineralizzazione di singole miofibre, alla rigenerazione e all'infiltrazione di sarcoclasti nell'endomisio e nel perimisio (Marcato et al., 2002). A livello cardiaco si osservano necrosi multifocali, mineralizzazione e fibrosi, soprattutto nel ventricolo sinistro, setto e muscoli papillari (McGavin et al., 2001). Il gold standard per la diagnosi è rappresentato dall'immunoistochimica, mediante la quale si rivela l'assenza di distrofina (dominii ROD e COOH) nei muscoli e nel miocardio.

- *Distrofia muscolare nemalinica:* patologia muscolare ad andamento progressivo che si verifica raramente negli animali domestici e colpisce soggetti di giovane età (spesso anche da quando iniziano a camminare), provocando progressiva debolezza, tremori, ipertermia, atrofia muscolare, iporiflessia bicipitale e patellare. L'esame sierologico e quello elettromiografico possono risultare normali. Viene definita miopatia nemalinica per la presenza di corpuscoli scuri intracitoplasmatici, definiti corpi nemalinici, che hanno un aspetto aghiforme o bastoncellare e sono distribuiti irregolarmente e in maniera discontinua nel sarcoplasma delle miofibre. In realtà i corpi nemalinici nell'uomo non sono patognomonici di miopatia nemalinica ed anche in cani e gatti sani si riscontrano come reperto occasionale nelle miofibre del muscolo scheletrico e cardiaco. Probabilmente essi rappresentano una risposta comune del muscolo scheletrico a certe situazioni patologiche e la diagnosi di miopatia nemalinica "primaria" si basa sul ritrovamento di corpi nemalinici in biopsie muscolari correlato ad un quadro clinico di miopatia grave e progressiva. Coerentemente con ciò, aggregati nemalinici si trovano non solo nelle forme di miopatia nemalinica congenita, ma possono anche essere associati ad altre neuropatie, miopatie e disturbi endocrini (Kube et al., 2006). Negli animali domestici sono stati trovati corpi nemalinici quasi interamente in fibre atrofiche di tipo I. In microscopia elettronica si può osservare la loro similarità strutturale alle bande Z. Sono costituiti in maggior parte da α- actinina, anche se sono stati descritti nel gatto accumuli di distrofina e spectrina.
- *Miotonia congenita:* a differenza di altre distrofie muscolari, non è progressiva, per cui i segni clinici tendono a stabilizzarsi entro i 6-12 mesi di età (ed anche la prognosi per la sopravvivenza a lungo termine è favorevole). La caratteristica clinica distintiva di questo disordine è la prolungata contrazione muscolare dopo la cessazione del movimento volontario, che si traduce clinicamente in difficoltà alla decontrazione dopo sforzo. Si ritiene che il mancato rilassamento muscolare sia dovuto ad un'anomalia della conduttanza del cloro a livello del sarcolemma. Un malfunzionamento dei canali ionici del cloro porta ad un accumulo di ioni potassio nel sistema di tubuli a T, cui consegue un'ipereccitabilità della membrana muscolare ed un'abnorme produzione di depolarizzazioni ripetitive seguite da ripolarizzazione e rilasciamento ritardato. Spesso si apprezza ipertrofia muscolare generalizzata e la percussione dei muscoli può lasciare un infossamento indicato come "fossetta miotonica". Nel gatto è conosciuta una rara miotonia congenita, caratterizzata soprattutto da fenomeni di disfonia e disfagia. Infatti, è stato descritto che alcuni felini mostrano disfagia e problemi respiratori dovuti alla protratta contrazione della muscolatura, rispettivamente, faringea e laringea. I gattini colpiti possono presentare segni di disfonia, caratterizzata da un miagolio rauco e fusa appena percettibili (Dewey, 2003). La diagnosi si basa su segnalamento, segni clinici caratteristici e riscontri elettrodiagnostici, in particolare anomalie elettromiografiche. I livelli di CK sono spesso normali o solo lievemente aumentati e le alterazioni delle biopsie muscolari di norma sono lievi ed aspecifiche.
- *Glicogenosi tipo IV:* o amilopectinosi,è una malattia ereditaria a carattere autosomico recessivo, causata da deficit dell'enzima ramificante (α-1,4-glucano:α-1,6-glucosil-transferasi) che comporta accumulo di glicogeno anomalo (amilopectina o α-amilosio) nei muscoli scheletrici e nel miocardio. I segni clinici sono dovuti a un'ipoglicemia cronica che peggiora gradualmente, con sintomi neuromuscolari. Molti dei gatti affetti nascono morti o muoiono poco dopo la nascita. Esiste però un'altra

forma, che è più rara ma anche più specifica: alcuni cuccioli omozigoti crescono normalmente fino all'età di 5-7 mesi ma improvvisamente il loro sviluppo si ferma, diventano sempre più deboli e mostrano ipertermia elevata, tremori intermittenti e generalizzati che diventano permanenti, fiacchezza intermittente, debolezza muscolare seguita da atrofia, contratture fibrotiche di articolazioni che portano a difficoltà di movimento e di alimentazione, tetraplegia. La malattia è inevitabilmente letale: la morte sopraggiunge spesso dai 10 ai 14 mesi di vita. Questi giovani gatti adulti, talvolta dopo coma, muoiono di attacco cardiaco (Gaschen, 2004). All'esame sierologico l'attività di CK ed ALT risulta aumentata, l'elettromiografia è informativa. Nonostante la diagnosi di certezza si abbia mediante il test genetico formulato nel 1996 da Fyfe, si può ricorrere all'esame istopatologico. Quest'ultimo rivela accumulo di inclusioni basofile, PAS- positive nel sarcoplasma delle miofiobre. Nei casi molto avanzati le miofibrille, distorte e rarefatte, vengono nascoste dall'abbondante quantità di glicogeno, che si accumula in gocce più grandi, visibili come vacuoli. Inclusioni analoghe, più piccole, si trovano anche nel SNC e in alcune cellule di altri organi.

- *Miopatia da deficit di Laminina α2:* dovuta ad una carenza di laminina α2, o merosina, la componente principale della lamina basale che circonda ogni fibra muscolare. Il deficit, o l'assenza di merosina dipendono da un'alterazione della codificazione genica, per cui la proteina viene espressa in esigue quantità o non viene espressa affatto. Conseguentemente a ciò, viene meno la stabilità di membrana durante la contrazione e, in parte, le manifestazioni clinico- patologiche sono simili a quelle dovute a miopatie con deficienza di distrofina (Awamura et al., 2008). Nei gatti sono stati riportati pochi casi di distrofia muscolare dovuta a carenza di laminina α2. La patologia è stata descritta in felini di razza Maine Coon (Poncelet et al., 2003) ed in gatti incrociati con soggetti di razza Persiana. I segni clinici rilevati riguardano una miopatia ingravescente, caratterizzata da un progressivo peggioramento in termini di debolezza, atrofia muscolare e contrattura articolare. I riflessi tendinei sono diminuiti e la velocità di conduzione nervosa risulta rallentata. La progressiva debolezza muscolare inizia intorno ai 6 mesi di età, con difficoltà di andatura a 8 mesi. La diagnosi è istologica: si riscontra un fenotipo distrofico con fibrosi dell'endomisio e occasionale assottigliamento delle fibre nervose mieliniche. Risulta strettamente necessaria un'indagine immunoistochimica, che rivela un'assenza di laminina α2.
- *Miastenia grave congenita:* riguarda una deficienza ereditaria di recettori per l'acetilcolina (Ach) a livello di membrana sarcolemmatica postsinaptica, dovuta ad un gene autosomico recessivo. Si presume anche che il gene sia responsabile di anomalie quali scarsa affinità di legame dei recettori per l'Ach, difetti di sintesi di nuovi recettori durante il turnover degli stessi, aumento della degradazione dei recettori, anomala posizione recettoriale sulla membrana postsinaptica, anormalità recettoriale. Tale condizione patologica causa debolezza muscolare per via della ridotta sensibilità del sarcolemma postsinaptico al neurotrasmettitore Ach. E' una patologia molto rara nel gatto ed attualmente è nota soltanto nel Siamese e nell'Europeo (Marcato et al., 2002). I segni clinici osservati sono: debolezza con anomalie dell'andatura, cambio di tonalità vocale, ventroflessione del collo e rigurgito, assenza di riflessi palpebrali (Joseph et al., 1988). Il sospetto diagnostico viene risolto somministrando cloruro di edrofonio, un anticolinesterasico che porta una transitoria risoluzione dei segni clinici. Mentre nelle forme acquisite la diagnosi di certezza si ottiene mediante la presenza di autoanticorpi nel siero contro il recettore dell'acetilcolina (AChR) con metodo radioimmunologico, nelle forme congenite gli autoanticorpi non vengono rilevati (Joseph et al., 1988). A livello istologico non ci sono segni di neuropatia o di miopatia.
- *Sarcoglicanopatie:* sono miopatie dovute a mutazioni di una o più subunità dei sarcoglicani (α, β, γ e δ-SG). Negli esseri umani, le mutazioni che avvengono tra i componenti dei sarcoglicani causano tipiche e gravi forme di distrofia muscolare dei cingoli. Quanto si verifica per l'intero complesso distrofina-glicoproteine (DAG), è valido anche per l'intero complesso dei sarcoglicani: l'integrità di esso riguarda l'assenza di anomalie di ogni componente. Tuttavia, è generalmente impossibile valutare la subunità primaria difettosa. In medicina veterinaria, alcune sarcoglicanopatie sono state descritte nel cane, sebbene non siano state ancora identificate mutazioni specifiche, ma solo carenze di SG. Sia nelle sarcoglicanopatie umane, sia in quelle canine, un deficit in una qualsiasi delle proteine dei SG porta a carenza secondaria del complesso SG intero. Per quanto riguarda la specie felina, è stata descritta una parziale carenza di β- SG con integrità di altri

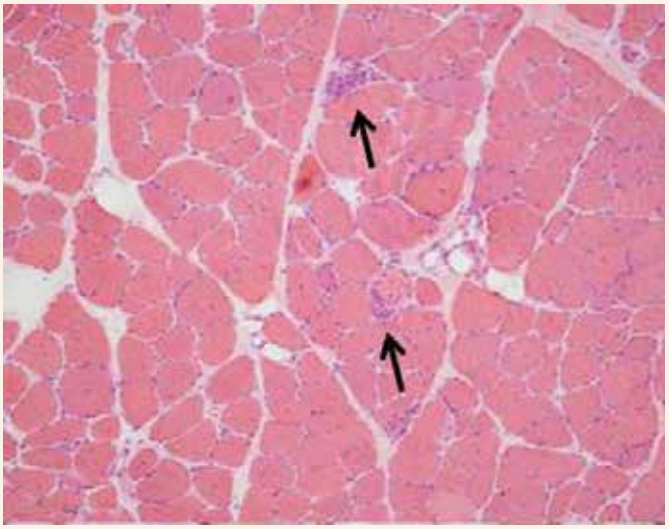
componenti del complesso SG (SGC). La patologia è stata osservata in un gatto maschio intero a pelo corto di 6 mesi di età, portato a visita per debolezza muscolare, riluttanza a muoversi e dispnea. I deficit neurologici erano limitati al sistema neuromuscolare. La biopsia muscolare ha rivelato una discreta variabilità di dimensioni delle miofibre, con numerose fibre atrofiche con margini arrotondati, rara necrosi miofibrale, rigenerazione e moderata fibrosi perimisiale ed endomisiale. L'immunoistochimica ha mostrato una diminuita espressione di β- e γ- SG e il western blotting ha rivelato una notevole diminuzione di β- SG con normale espressione di α-, γ- e δ- SG, caveolina-3 e calpaina-3 (Salvadori et al., 2009).

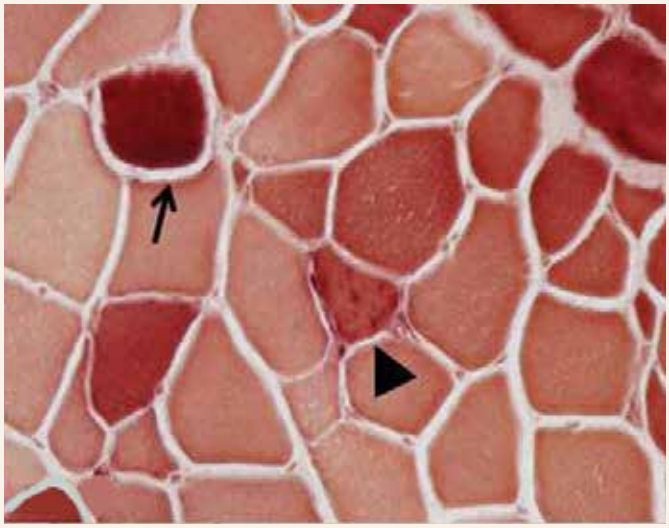
- *Distroglicanopatie:* sono distrofie muscolari associate a deficit di distroglicani (α- DG e β- DG), glicoproteine che occupano un ruolo centrale nel complesso DAG. L'α-distroglicano è una proteina periferica di membrana altamente glicosilata, che lega diverse molecole (laminina, agrina, perlecani, neurexina, biglicani) e che interagisce intimamente con la porzione extracellulare del β- distroglicano. Alterazioni di glicosilazione dell'α- distroglicano danno origine alle distroglicanopatie, un gruppo di distrofie muscolari autosomiche recessive. Recenti studi hanno individuato una serie di forme di distroglicanopatie anche nella specie felina; questi disturbi sono stati descritti in gatti di razza Sphynx e Devon Rex (Paciello et al., 2009). I soggetti colpiti di razza Devon Rex mostravano una miopatia a carattere lentamente progressivo, con movimenti passivi di testa e collo, testa abbassata, protrusione dorsale delle scapole, megaesofago, debolezza appendicolare generalizzata e affaticabilità. Tali segni sono divenuti evidenti a 3- 23 settimane di età per poi progredire lentamente oppure rimanere invariati. I livelli plasmatici di CK ed AST non sono risultati elevati e all'elettromiografia sono stati riscontrati solo lievi cambiamenti. L'esame istologico dei muscoli dei gatti affetti ha mostrato alterazioni indicanti distrofia muscolare (eccessiva variabilità nelle dimensioni delle miofibre e nuclei centrali, occasionale presenza di fibre necrotiche con infiltrazione istiocitica e diverse fibre rigeneranti), con assenza di coinvolgimento dei nervi periferici, del midollo spinale e del miocardio. Nei due giovani soggetti di razza Sphynx, una razza strettamente legata al Devon Rex, si è riscontrata la presenza di segni clinici lentamente progressivi di debolezza neuromuscolare, quadri elettromiografici anormali e lievi alterazioni miopatiche nei campioni di biopsia muscolare (eccessiva variabilità di dimensioni delle miofibre, predominanza delle miofibre tipo I e infrequenti nuclei in posizione centrale). Rispetto ai campioni muscolari di gatti sani, entrambi i gatti Sphynx avevano diminuzione dei livelli di α-DG glicosilato. L'analisi della sequenza di mRNA e DAG1 non ha rilevato anomalie rispetto a gatti normali, suggerendo che la distrofia muscolare dei gatti Sphynx non è dovuta a un difetto della glicoproteina α-DG. Tuttavia, l'espressione di α-DG risulta ridotta, sia rispetto al totale delle glicoproteine, sia rispetto al β-DG. Questi dati suggeriscono che la distrofia muscolare che si verifica nelle razze Sphynx e Devon Rex è dovuta a un difetto nell'espressione di α-DG (Martin et al., 2008).

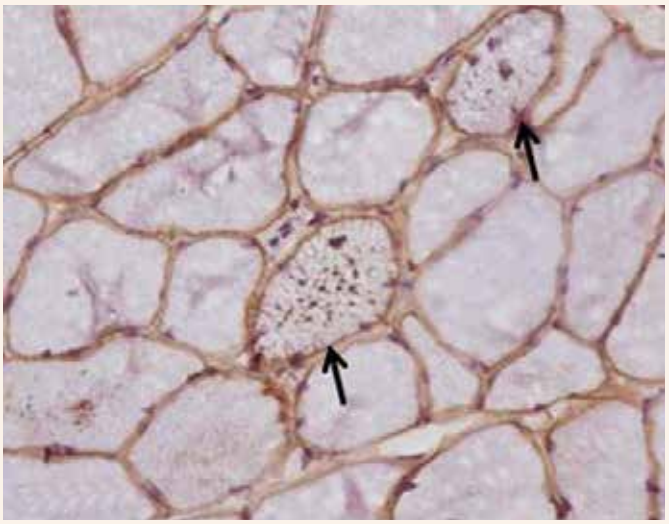
Le numerose ricerche riguardanti le miopatie nel gatto e nelle altre specie animali, hanno portato ad importanti risultati scientifici sia in campo medico veterinario, con nuove possibilità diagnostiche, che in medicina umana, con l'acquisizione di nuovi modelli animali per lo studio delle principali miopatie dell'uomo. In quest'ottica il presente lavoro si pone l'obiettivo di descrivere, nella specie felina, una nuova forma di miopatia congenita, non inquadrabile in nessuna delle miopatie feline finora descritte in letteratura e che è risultata simile alla miopatia umana denominata *Miopatia X-linked con eccesso di autofagia*.

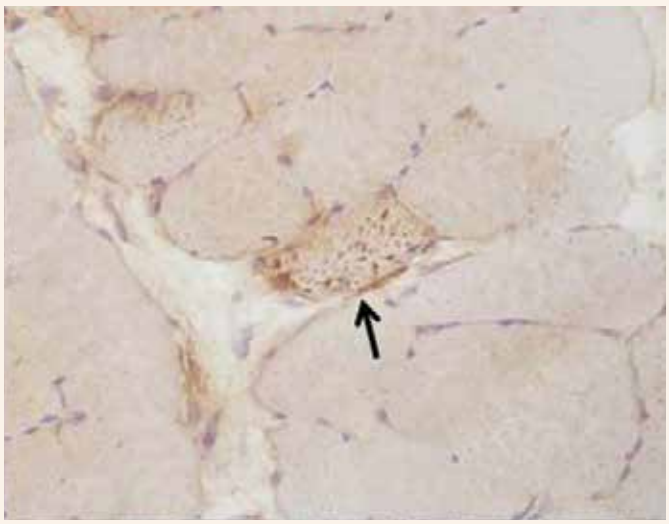
MATERIALI E METODI

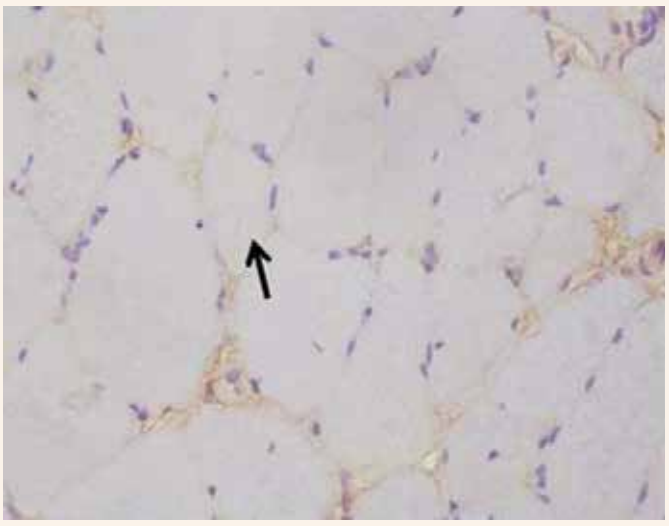
Lo studio ha avuto in oggetto un gatto domestico di razza europea di un anno di età e di sesso femminile. All'anamnesi la proprietaria ha riferito che l'esordio della sintomatologia si è avuto ad otto mesi di età con progressiva debolezza, adinamia, anoressia, dimagramento, dolore diffuso e riduzione della capacità visiva. All'esame clinico, la gattina si presentava in evidente sottopeso, le condizioni generali apparivano scadenti ed il pelo era opaco e arruffato. Era evidente, inoltre, midriasi bilaterale scarsamente responsiva alla stimolazione luminosa. La temperatura era normale e, all'esame dell'apparato locomotore, era evidenziabile una difficoltà di movimento: la deambulazione si estrinsecava con sensibile lentezza e debolezza, con dorso inarcato, dopo pochi passi la gattina si fermava manifestando una evidente riluttanza a riprendere il movimento. Alla palpazione era possibile rilevare un'evidente mialgia diffusa. All'esame visivo della retina, mediante oftalmoscopio, era possibile rilevare una riduzione di spessore significativa dei vasi retinici ed iper-riflettività del fondo: segni sug-

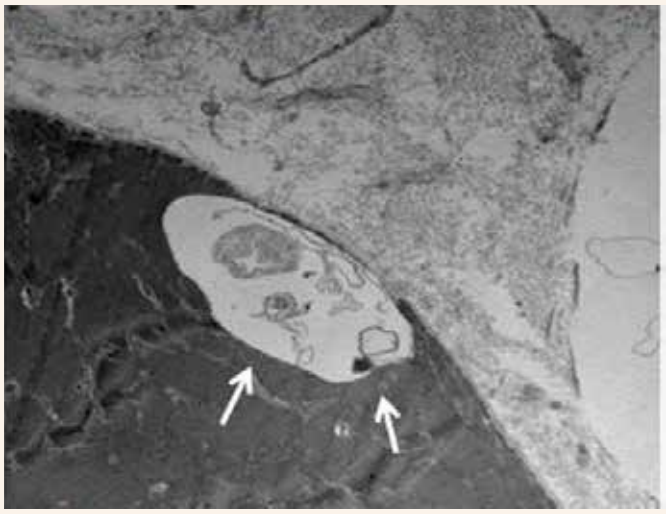

Fig. 1


Fig. 2


Fig. 3


Fig. 4


Fig. 5


Fig. 6

gestivi di atrofia retinica. Il gatto è stato sottoposto a *test sierologici* per la ricerca di malattie infettive, quali FIV, FeLV e Toxoplasma gondii, che possono rendersi responsabili di polimiositi; *analisi ematobiochimiche* quali CK, LDH, AST, ALT e BUN; *esame EMG* per valutare scariche anomale o alterata conduzione nervosa. Sono state effettuate *biopsie muscolari* dal muscolo quadricipite femorale e tibiale craniale, congelate in isopentano preraffreddato in azoto liquido e le sezioni ottenute al criostato sono state sottoposte alle colorazioni istologiche ed istoenzimatiche

di routine per il tessuto muscolare. Sono state inoltre condotte indagini di immunoistochimica e di microscopia elettronica. In particolare, sono state effettuate colorazioni istologiche, quali Ematossilina Eosina (E.E.), Tricromica di Engel e Periodic Acid Shiff (PAS), per il glicogeno; colorazioni istoenzimatiche come la nicotinammide adenina dinucleotide-tetrazolio reduttasi (NADH-TR), che evidenzia il reticolo sarcoplasmatico e i mitocondri, la succinico deidrogenasi (SDH) e la citocromo ossidasi (COX) per l'evidenziazione e la valutazione dei mitocondri, ATP-asi pH 4.3 e 9.4 per la valutazione della tipologia fibrale e l'Esterasi per la valutazione dei lisosomi e delle giunzioni neuromuscolari; sulle sezioni di muscolo è stato eseguito, inoltre, l'esame immunoistochimico, utilizzando anticorpi diretti contro i dominii ROD e COOH della distrofina, i sarcoglicani, β- SG, γ- SG, i distroglicani, β- DG, l'α2 Laminina (volti ad evidenziare le proteine e glicoproteine di membrana), Beclin-1, LAMP2, VMA21 (proteine lisosomiali); e la microscopia elettronica.

RISULTATI

I *test sierologici* hanno avuto *esito negativo* per FIV (Feline Immunodeficiency Virus), FeLV (Feline Leukemia Virus) e Toxoplasma gondii. Le *analisi ematobiochimiche* hanno rilevato un *aumento* di CK (3033 U.I.; valore di riferimento < 320 U.I.), LDH (610 U.I. ; valore di riferimento 40-200 U.I.), ALT (219 U.I.; valore di riferimento <87 U.I.) ed AST (120 U.I.; valore di riferimento <35 U.I.), mentre la BUN risultava *lievemente diminuita* (38 mg/dl rispetto a 40-70 mg/dl). L'*esame EMG* ha evidenziato un'*attività muscolare spontanea* con conduzione nervosa nella norma.

Le *colorazioni istologiche* hanno evidenziato, alla E.E. e alla Tricromica di Engel, modica variabilità dei diametri miofibrali, fibre atrofiche non angolari, miofibre con nuclei in posizione centrale, vacuolizzazione citoplasmatica e fibre in necrosi associate a fenomeni di sarcoclastosi (fig. 1), aumento del tessuto connettivo endomisiale e "rimmed vacuoles", mentre alla PAS piccoli accumuli granulari contenenti materiale PAS + all'interno di alcune miofibre.

Le *colorazioni istoenzimatiche* hanno evidenziato fibre con aspetto lobulato all' NADH-TR e SDH e "ring fibers" alla COX. All'Esterasi si è osservata positività intracitoplasmatica in diverse miofibre (fig. 2). Le altre colorazioni effettuate non hanno evidenziato alterazioni importanti.

L'esame immunoistochimico (IHC) ha evidenziato positività non solo a livello di membrana sarcoplasmatica, ma anche sulle membrane di alcuni vacuoli intracitoplasmatici per i dominii della Distrofina (ROD e COOH) (fig. 3), β- e γ–SG,β-DG, α2 Laminina, Beclin-1, LAMP-2 e LC3 (fig. 4) . Sono state riscontrate alcune, lievi e deboli positività per VMA21 (fig. 5).

Alla *microscopia elettronica*, sono stati osservati vacuoli circondati da membrane e contenenti materiale eterogeneo costituito da piccoli corpiccioli rotondi e densi, materiale granulare, mitocondri degenerati. All'interno delle miofibre, tra le miofibrille, erano presenti piccoli vacuoli, mentre quelli più grandi sono stati osservati in posizione subsarcolemmale (fig. 6).

Sulla base dei risultati ottenuti è stato possibile emettere una diagnosi di miopatia autofagica vacuolare (AVM), simile alla XMEA dell'uomo.

Per il gatto affetto è stato proposto un percorso di fisioterapia associato a terapia farmacologica a base di Deflazacort (1mg/kg die), coenzima Q10, vitamina C ed E, e fluidoterapia a base di elettroliti che hanno permesso un ripristino della deambulazione e della nutrizione spontanea. La risposta alla terapia ha manifestato fasi alterne di benessere, i tentativi di riduzione dei dosaggi di cortisone (0,5 mk/kg) erano sovente associati a peggioramento della sintomatologia, mentre gli effetti collaterali gastrointestinali del Deflazacort erano controllati con somministrazione di Ranitidina (2 mk/Kg die). Il gatto è deceduto dopo 12 mesi di terapia, a 2 anni di età dopo un periodo di 3 settimane caratterizzato da un peggioramento della sintomatologia e assenza di risposta alla terapia. Nelle ultime settimane di vita si è fatto ricorso, a più riprese, a ossigenoterapia per il controllo della insufficienza respiratoria determinata dalla incompetenza parziale dei muscoli intercostali e del diaframma.

DISCUSSIONE

Dai risultati ottenuti si evince la particolarità e l'unicità del caso sopra descritto e la sua stretta similarità istomorfopatologica con le miopatie con eccesso di autofagia dell'uomo.

L'esame della biopsia muscolare e le indagini immunoistochimiche, hanno permesso di poter escludere, tutte le forme di miopatia congenita felina finora descritte. La biopsia muscolare, altresì, ha permesso di escludere anche alcune miopatie congenite descritte nell'uomo, denominate "Malattie da accumulo lisosomiale" (*LSG- Lysosomal Storage Disease*)o "Malattie autofagiche vacuolari": la *Malattia di Pompe*, per l'assenza di marcati accumuli contenenti materiale PAS positivo e la *Malattia di Danon*, per la forte

e marcata positività immunoistochimica delle membrane vacuolari all'anticorpo diretto contro la proteina associata alle membrane lisosomiali LAMP-2.
I criteri di esclusione sopra riportati permettono di affermare la presenza di un nuovo quadro di miopatia felina. Seppure sia necessario un ulteriore esame di Western blot per confermare una riduzione dell'espressione di VMA21, grazie alle indagini istomorfologiche ed immunoistochimiche effettuate sulla biopsia muscolare è stato possibile emettere una diagnosi di miopatia autofagica vacuolare (AVM), simile alla XMEA dell'uomo.
Nonostante le patologie X-linked classicamente determinino un fenotipo patologico principalmente nei maschi, talvolta, alcune femmine carriers possono manifestarne i sintomi clinici. Se la femmina carrier manifesti o meno il fenotipo patologico dipende, infatti, dalla percentuale di cromosomi X portatori del difetto genetico attivati sottoforma di Corpi di Barr, fenomeno questo del tutto casuale. Nel caso qui descritto è quindi plausibile supporre che la maggior parte di cromosomi X non coinvolti dall'alterazione siano stati silenziati, mentre quelli mutati siano rimasti attivi determinando così l'alterazione nella sintesi della proteina VMA21 responsabile del fenotipo patologico descritto.
Il presente studio rappresenta dunque il primo report di miopatia con eccesso di autofagia nella specie felina. È fondamentale sottolineare l'importanza di tale scoperta, sia per ampliare le possibilità diagnostiche delle miopatie feline in medicina veterinaria, sia perché un modello spontaneo di XMEA come il gatto potrebbe in un futuro risultare utile per l'individuazione di protocolli fisioterapici e farmacologici in grado di migliorare la prognosi dei pazienti affetti.

BIBLIOGRAFÍA

1. Awamura Y., Uchida K., Arikawa-Hirasawa E.J. (2008): Long-term follow-up of laminin alpha2 (merosin)- deficient muscular dystrophy in a cat.Journal of Feline Medicine & Surgery 2008 Jul;10(3):274-9.
2. Dewey C.W. (2003): A Practical Guide to Canine and Feline Neurology. 2003: 367 - 413.
3. Gaschen F. (2004): Glycogen Storage disease type IV. In Congenital feline myopathies, 360 -361.
4. Joseph R.J., Carrillo J.M., Lennon V.A. (1988):Myasthenia gravis in the cat. Journal of Veterinary Internal Medicine 1988 Apr-Jun;2(2):75-9.
5. Kube S.A., Vernau K.M., LeCouteur R.A., Mizisin AP., Shelton G.D. (2006):Congenital myopathy with abundant nemaline rods in a cat. Neuromuscular Disorders2006 Mar;16(3):188-91.
6. Marcato P.S., Rosmini R., Bazzo R.(2002): Sistema locomotore: muscoli. In Patologia sistematica veterinaria, Ed. Edagricole- Bologna, pg 1095-1196.
7. Martin P.T., Shelton G.D., Dickinson P.J., Sturges B.K., Xu R., LeCouteur R.A., Guo Ling T., Grahn R.A., Lo H.P., North K.N., Malik R., Engvall E., Leslie A.L. (2008):Muscular Dystrophy associated with alpha- dystroglycan deficiency in Sphynx and Devon Rex cats.Neuromuscular Disorders2008 December ; 18(12): 942–952
8. McGavin M.D., Valentine B.A. (2001): Muscle. In Thomson's special veterinary pathology, Ed. Mosby- Saint Louis (Missouri), pp 461-478.
9. Paciello O., Papparella S. (2009): Histochemical and immunohistological approach to comparative neuromuscular diseases. Folia Histochemica et Cytobiologica 2009: 47(2), 143-152.
10. Poncelet L., Résibois A., Engvall E., Shelton G.D. (2003):Laminin alpha2 deficiency-associated muscular dystrophy in a Maine coon cat. Journal of Small Animal Practice 2003 Dec;44(12):550-2.
11. Ramachandran N., Munteanu I., Wang P., Ruggieri A., Rilstone J.J., Israelian N., Naranian T., Paroutis P., Guo R., Ren Z.P., Nishino I., Chabrol B., Pellissier J.F., Minetti C., Udd B., Fardeau M., Tailor C.S., Mahuran D.J., Kissel J.T., Kalimo H., Levy N., Manolson M.F., Ackerley C.A., Minassian B.A. (2013): VMA21 deficiency prevents vacuolar ATPase assembly and causes autophagic vacuolar myopathy. Acta Neuropathologica 2013 Jan 12.
12. Salvadori C., Vattemi G., Lombardo R., Marini M., Cantile C., Shelton G.D. (2009):Muscular dystrophy with reduced beta-sarcoglycan in a cat. Journal of Comparative Pathology 2009 May;140(4):278-82.
13. Watchko J.F., O'Day T.L., Offman E.P.(2002): Functional characteristics of dystrophic skeletal muscle insights from animal models. Journal of Applied Physiology (93): 407-417.