

La diagnostica di laboratorio

nella medicina sportiva del cavallo

La medicina sportiva del cavallo ha avuto un notevole sviluppo negli ultimi 20 anni, le performance sportive sono migliorate per tutte le discipline equestri, le possibilità diagnostiche di laboratorio si sono molto ampliate anche grazie alla presenza di sempre nuove tecniche e possibilità investigative: endoscopie, ecografie ed esame elettrocardiografico sotto sforzo con treadmill od addirittura in pista, spirometria, elettromiografia, controlli ematologici mirati.

Vediamo in dettaglio per quali situazioni la diagnostica di laboratorio costituisce un ausilio indispensabile.

> APPARATO OSTEO-ARTICOLARE

Una volta localizzata la sede di zoppia ed individuato il distretto coinvolto con opportuni accertamenti radiografici od ecografici, il laboratorio può integrare efficacemente la diagnostica delle patologie articolari attraverso l'analisi della sinovia.

Esame del liquido sinoviale

Aspetto visivo, presenza di cellularità e sue caratteristiche, contenuto di proteine totali, ps, glucosio ed anche amiloide sierica con confronto tra livelli ematici ed intra-articolari nella differenziazione tra processo infiammatorio di origine traumatica o settica.

Si consiglia di prelevare in modo asettico il liquido dopo accurata disinfezione, e di immergerlo in una provetta con EDTA per gli esami citologico e biochimico.

.Coltura batteriologica & antibiogramma: è possibile con differenti modalità (questo vale per tutti i liquidi cavitari)

a) inviando un tampone con medium dei liquidi prelevati ed inviando anche gli stessi in una provetta sterile (tappo rosso)

b) immettendo il materiale in provetta sterile senza anticoagulante (tappo rosso) e spedendolo tal quale, la coltura verrà poi allestita in laboratorio

c) utilizzando l'apposita bottiglia per emocoltura, inoculando il liquido come se si trattasse di sangue.

Sarebbe opportuno effettuare la spedizione con temperatura controllata.

> APPARATO RESPIRATORIO

Una volta escluse le patologie osteo-articolari, in caso di calo di prestazioni, il successivo apparato da prendere in esame è quello respiratorio. Vediamo con quali esami strumentali possiamo ottimizzare la raccolta di materiale da inviare al laboratorio.

Endoscopia: l'ispezione visiva del tratto laringeo e tracheo-bronchiale con possibilità di prelievo di liquidi e materiale per esami istologici e batteriologici è considerato il "gold standard" per la diagnostica del cavallo atleta. L'operatore esperto può infatti già all'ispezione visiva del tratto respiratorio considerare la presenza di stenosi o alterazioni del palato molle e laringe, di processi infiammatori o neoplastici, di broncospasmo o di emorragie

patologiche che, riportate nella sezione “anamnesi”, possono agevolare il laboratorio verso una corretta diagnosi cito-istologica.

Ecografia: è possibile effettuare un esame ecografico per l'esecuzione di un agoaspirato ecoguidato del parenchima polmonare quando patologico, per la valutazione della pleura e per rilevare la presenza di liquido in eccesso, oltre che per l'esame della zona cardiaco-mediastinica (per questo distretto è mandatoria la raccolta di campioni per via ecoguidata).

BAL / TW: qualora non si disponesse di un endoscopio, è possibile comunque prelevare del materiale da sottoporre ad esame citologico e/o batteriologico dall'albero bronchiale con l'ausilio di appositi cateteri.

Il prelievo tramite Tracheal Wash appare maggiormente diagnostico per il primo tratto respiratorio, meno indicativo per la valutazione sia citologica che batteriologica delle vie aeree profonde – in quest'ultimo caso è preferibile il BAL.

Esame di liquidi da TW o BAL: si consiglia di centrifugare il materiale raccolto, dopo averlo immesso in una provetta con EDTA per evitare la formazione di cluster cellulari di difficile lettura, e di strisciare la parte cellulare recuperata con l'ausilio di una spazzolina quanto prima su vetrino, lasciando asciugare e fissare all'aria.

Si tratta di un accorgimento di particolare importanza per questo tipo di lavaggi, poiché il materiale risulta più di frequente contaminato da elementi estranei, frustoli di fibrina, pus o sangue e quindi di più difficile lettura. Se il vetrino viene allestito nelle prime ore dopo il prelievo, si hanno le massime probabilità di ottenere uno striscio diagnostico in quanto è massima la preservazione cellulare e minima la contaminazione.

Coltura batteriologica & antibiogramma: è possibile eseguire subito un tampone con medium sul liquido prelevato, oppure utilizzare una provetta sterile (con tappo rosso) in cui trasferire il liquido prelevato, da inviare prontamente al laboratorio.

Per il prelievo e trasporto dei materiali al laboratorio si rimanda al capitolo della “Diagnostica dell'apparato osteo-articolare”.

> PATOLOGIE CARDIACHE

Le patologie cardiache sono spesso silenti ad andamento subdolo, l'unico sintomo evidente appare il calo di rendimento sportivo, spesso senza altri sintomi evidenti, a volte nemmeno ad una auscultazione attenta.

Vediamo quali strumenti possono aiutarci nella diagnosi di questo apparato.

Elettrocardiografia: permette di valutare la funzionalità cardiaca e la corretta propagazione dello stimolo contrattile. In caso di aritmie importanti possiamo affiancare a questo esame un controllo ematologico completo con particolare attenzione agli elettroliti ed agli enzimi tipici del muscolo cardiaco.

Elettroliti (siero): appaiono importanti i livelli di Ca, Mg, K, Na; squilibri di questi elementi predispongono infatti a disturbi della polarizzazione del nodo del seno e della conduzione dello stimolo attraverso il miocardio. Questo può avvenire per disidratazione, errori alimentari, patologie dell'emuntorio, sudorazione profusa.

Flutter diaframmatico: si tratta di un'anomalia della contrazione del diaframma che si attiva in maniera anomala abbinandosi al battito cardiaco per malfunzionamento vago-frenico. Si presenta usualmente sotto sforzo, in

condizioni di acidosi metabolica e disidratazione. Si riscontrano livelli ematici bassi di Calcio, Cloro, Mg e K.

Queste anomalie elettrolitiche disturbano la depolarizzazione del nervo frenico che fa partire la contrazione del diaframma in sincrono con il battito cardiaco, causando una tachipnea respiratoria grave con atti respiratori non completi, molto superficiali quindi poco efficienti per l'ossigenazione dei tessuti. Questa condizione va corretta prontamente con ripristino dei livelli di Ca, fluidi e riposo.

Enzimi specifici del muscolo cardiaco

Alpha-HBDH: è un isomero della lattato deidrogenasi specifico della muscolatura cardiaca che permane elevato per molti giorni in caso di infarto del miocardio o forte emolisi (anche gli eritrociti ne sono ricchi).

Troponina I: è una proteina che regola la contrazione della muscolatura cardiaca e striata, permette una valutazione piuttosto attendibile della funzionalità del cuore. I suoi livelli si innalzano rapidamente al momento della lesione cardiaca e permangono elevati per 1 – 2 giorni.

Questi enzimi si ritrovano per la maggior parte nelle fibre del muscolo cardiaco e la loro presenza in circolo indica un danno di questo organo. Nella medicina umana questi parametri si innalzano notevolmente in caso di infarto del miocardio. Nel cavallo la letteratura in proposito non è così vasta, vanno sempre affiancati ai dati clinici. Si misurano preferibilmente su siero.

Laboklin dispone di un "**Profilo cardiaco**" completo che comprende la misurazione di tutti questi parametri.

Ecocardiografia: con questo esame possiamo valutare la condizione anatomico-funzionale

delle camere cardiache, delle valvole, di endo- e pericardio.

Esame del liquido pleuro-pericardico

Sempre tramite agoaspirato ecoguidato, per l'invio al laboratorio si veda la parte della "Diagnostica dell'apparato osteoarticolare".

In aggiunta ai parametri che possiamo misurare per il liquido sinoviale, misuriamo anche i livelli di colesterolo, trigliceridi e LDH per questo tipo di prelievo. In caso di sospetto di pericardite è anche possibile monitorare la situazione settico-infiammatoria tramite la misurazione dell'amiloide sierica che testiamo sia su siero che su liquido pericardico.

> PATOLOGIE della MUSC. STRIATA

Qualora si sospetti una sofferenza muscolare diffusa e si escluda una causa traumatica, è possibile la valutazione generale della condizione delle fibre muscolari striate tramite esami ematologici completi.

Esame emocromocitometrico: permette di considerare la presenza di eventuale anemia, una carenza di emoglobina, anomalie morfo-funzionali delle emazie che compromettono il trasporto dell'ossigeno ai tessuti, rialzo della serie bianca nei casi di miosite od infezione. Si tratta di fattori che riducono notevolmente la funzionalità dell'apparato, rendendo di fatto impossibile la corretta esecuzione dello sforzo sportivo di alto livello.

Enzimi muscolari: di seguito i principali parametri da prendere in considerazione per la valutazione dell'apparato muscolare.

LDH: è un enzima poco specifico della fibra muscolare che completa la glicolisi anaerobica; si possono trovare dei livelli ematici elevati anche per emolisi, danno epatico, danno renale e quindi va esaminato unita-

mente ad altri enzimi maggiormente specifici della muscolatura. I livelli sierici aumentano dopo 24 ore dal danno cellulare e permangono elevati fino a 7 giorni dopo. È possibile la differenziazione nei vari **isoenzimi**, ciascuno derivante da diversi apparati. Su richiesta Laboklin può effettuare questa differenziazione avvalendosi di laboratori partner.

I valori sono stati validati per la specie equina:

- LDH1: prevalente nel miocardio ed emazie
- LDH2: presente nel miocardio, emazie, polmone, rene, muscolo scheletrico
- LDH3: si rileva in polmone, placenta, muscolo scheletrico
- LDH4: si ritrova nel rene, muscolo, polmone
- LDH5: si riscontra nel muscolo, fegato e rene.

CK: si tratta di un enzima specifico della muscolatura scheletrica e cardiaca che permette al miocita di disporre dell'ATP necessario per la contrazione. Il suo livello ematico si innalza piuttosto rapidamente – tra le 6/12 ore dopo il danno alla fibra – e tende a ritornare a livelli nella norma nell'arco di 1- 3 giorni. Possiamo avere lievi rialzi in caso di trasporti, stress da surmenage o sforzo sportivo, o aumenti più importanti (con rialzo dei valori oltre i 1000 UI/l) in caso di patologia muscolare grave di tipo infettivo, carenziale, metabolico, traumatica.

AST: è un enzima presente negli epatociti ed eritrociti oltre che nei miociti. Per questo motivo è considerato un indicatore aspecifico di patologia, quindi va interpretato in associazione ad altri parametri organo-specifici. Questo enzima si innalza nelle 24-48 ore dall'insulto muscolare ed i livelli permangono elevati per 7- 8 giorni.

Riassumendo:

per una corretta diagnostica di questo apparato, è necessaria una misurazione seriale di CK congiuntamente ad AST che permette di stabilire la corretta tempistica del danno muscolare, quindi:

– CK si alza prima ma si abbassa subito

- AST si alza successivamente ma rimane alta per più giorni, quindi:

- alti livelli di AST e CK normale indicano che il danno muscolare si è risolto

- livelli elevati di AST e CK indicano più lesioni acute ripetute nel tempo, con danno ancora presente

- isoenzimi dell'LDH: possono servire ad ulteriore completamento del quadro.

PO4: esprime il livello di fosforo legato all'ossigeno in circolo ed in condizioni di omeostasi metabolica un innalzamento di questo valore indica un severo danno della muscolatura striata per trauma o neoplasia.

Elettroliti sierici: in caso di danno muscolare severo possiamo riscontrare elevati livelli di Ca e K in circolo, che normalmente si ritrovano nei miociti.

Attenzione alle modalità di prelievo per questi parametri: prelievi troppo veloci/ripetuti, materiale mal conservato o semplicemente vecchio o mancata pronta separazione dalla parte corpuscolata possono causare **emolisi**, che determina un innalzamento spurio di tutti i valori muscolari, unitamente a colorazione rossastra del siero/plasma.

Tempistica di prelievo: non è necessario il digiuno ma l'esercizio innalza i livelli di tutti gli enzimi muscolari e l'effetto splenico aumenta le emazie in circolo e quindi l'ematocrito; col sudore anche gli elettroliti variano.

Laboklin dispone di due “**Profili disturbi muscolari I e II**” che comprendono la misurazione di elettroliti, enzimi muscolari e cardiaci, selenio e vit. E, la cui carenza come sappiamo condiziona in senso negativo la funzione muscolare.

Biopsia muscolare: si possono prelevare parti di muscolatura di almeno 0,5 cm di diametro tramite l'utilizzo di un punch o con l'ausilio di un bisturi in anestesia locale. Si predilige il muscolo gluteo o semitendinoso, oppure i fasci muscolari che mostrano patologia. Una volta prelevato, il materiale va conservato in una soluzione di formalina al 5% (Laboklin fornisce sia la soluzione che le adeguate protezioni per il trasporto del contenitore, evitare il “fai da te” in questo campo!). Più campioni di uno stesso distretto vengono conteggiati come singola biopsia d'organo/caso clinico. Questo vale anche per i prelievi biotici di distretto ottenuti per via endoscopica qualora se ne ravveda la necessità (neoformazioni cavitare).

Miopatie nutrizionali: sono descritte alcune miopatie giovanili tipiche da carenza di vit. E e selenio, dovute principalmente a bassi livelli nei foraggi e scarsa integrazione dei concentrati, con soggetti neonati od in età pediatrica che mostrano segni di decubito persistente, zoppie, fascicolazioni ed andatura rigida. L'integrazione con monitoraggi seriali dei livelli ematici di questi elementi permette di risolvere agevolmente questa patologia, specialmente nei soggetti in accrescimento.

PATOLOGIE GENETICHE MUSCOLARI

Esistono alcune patologie di carattere genetico che condizionano la funzionalità degli enzimi necessari per la contrazione muscolare, ricordiamo:

- PSSM (Miopatia da accumulo di polisaccaridi)

- HYPP (Paralisi periodica iperkaliemica)

- GBED (Deficienza per l'enzima della ramificazione del glicogeno)

- Miotonia Congenita del Pony

Laboklin offre la possibilità di testare queste malattie (vedi l'approfondimento: “**Malattie Genetiche del cavallo**, novembre 2017). Si consiglia di sottoporre a questi esami le fattrici prima dell'accoppiamento e di scegliere stalloni omozigoti negativi.

> PATOLOGIE METABOLICHE

La presenza di una patologia metabolica subclinica potrebbe compromettere il rendimento sportivo del soggetto anche in assenza o quasi di sintomatologia chiara.

In caso di **malassorbimento** con anemia di tipo carenziale conseguente, assistiamo ad una compromissione dell'efficienza della muscolatura striata e cardiaca. In base al distretto coinvolto è necessario un approfondimento mirato sulle cause di perdita ematica (ulcere, gastriti, patologie enteriche, parassitosi, neoplasie, funzionalità renale alterata, ...) o di disturbi della crasi (linfopenie, linfocitosi, malattie autoimmuni etc.).

Vediamo in dettaglio quali esami ematologici possono aiutarci.

Esame emocromocitometrico: indispensabile per valutare la morfologia e quantità delle emazie e delle serie bianca, oltre alla valutazione del contenuto di Hb.

BUN / Creatinina: la valutazione della funzionalità renale attraverso questi parametri ematici è indispensabile per una diagnostica corretta in caso di anemia.

Esame delle urine: la presenza di **mioglobina**, una proteina muscolare che viene molto rapidamente liberata in circolo – dai 5 ai 30 minuti dopo il danno muscolare - e velocemente filtrata dal rene, fa assumere a questo liquido il caratteristico aspetto bruno-rossastro (tipo „Coca-cola“). Quando presente, è un indice di grave e massiccia sofferenza muscolare con compromissione metabolica, che richiede una pronta ed aggressiva terapia (fluidi, FANS, vit. E e selenio, carnitina, ...). Un ps alterato e la presenza di proteinuria confermano la presenza di danno dell'emuntorio.

Squilibri elettrolitici: errori dietetici e di approvvigionamento di liquidi, sudorazione profusa ed emoconcentrazione da varie cause, possono determinare rigidità della muscolatura striata, extrasistoli cardiache e disturbi del ritmo oltre ad accumulo di lattati e scarsa efficienza contrattile.

Per un sospetto di patologia metabolica, Laboklin offre in “**Profilo performance cavallo**”: oltre a valutare elettroliti ed enzimi muscolari infatti, utilizzando le provette di NaF (tappo grigio), possiamo agevolmente misurare i livelli di **lattati** fino a 48 ore dopo il prelievo. Questo valore, quando elevato in misurazioni seriali (trend di crescita e non di calo, e valori assoluti oltre 2,0 mmol/l),

permette di affermare che la fibra muscolare sta utilizzando in modo preponderante la via anaerobica con consumo di zuccheri e che non sta privilegiando l'utilizzazione degli acidi grassi, che invece determinerebbero una migliore efficienza contrattile e minor carico di scorie causa di acidosi.

Neoplasie: la presenza di patologie neoplastiche condiziona in senso negativo la condizione corporea del soggetto. In alcuni casi possiamo riscontrare un generico rialzo della AP e dei livelli di calcio ematici.

Disordini di tipo ormonale: ricordiamo che livelli elevati di cortisolo ed ACTH, come si verifica nei soggetti affetti da Sindrome di Cushing, provocano generalmente uno scadimento della condizione corporea con l'insorgenza di zoppie di carattere subclinico, ascessi podali e della cavità orale, alterazione del tono dell'umore con generale abbattimento e quindi calo di rendimento.

Non sempre questi soggetti mostrano il caratteristico irsutismo del mantello, soprattutto se vengono tosati regolarmente, come succede al cavallo atleta.

Qualora si sospetti questo tipo di patologia, si consiglia un dosaggio dell'ACTH (plasma da EDTA) come screening di base per la diagnosi di questa Sindrome.