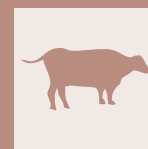


# Tre casi atipici di miopatia lipomatosa in bovine di razza Piemontese: reperti anatomo-istopatologici



ELENA BIASIBETTI, ORLANDO PACIELLO<sup>1</sup>, MICHELANGELO BOTTA<sup>2</sup>, STEFANO AMEDEO, MARIA TERESA CAPUCCHIO

Dipartimento Patologia Animale, Università di Torino

<sup>1</sup> Dipartimento di Patologia e Sanità Animale, Università di Napoli

<sup>2</sup> ASL CN1, Italia

## RIASSUNTO

La miopatia lipomatosa è una patologia degenerativa/infiltrativa caratterizzata dalla sostituzione delle fibre muscolari con tessuto adiposo, considerata un reperto occasionale in sede di macellazione.

Tre carcasse di bovine Piemontesi regolarmente macellate, provenienti da diverse aziende della regione, rispettivamente di 8, 10 e 11 anni sono state segnalate al Dipartimento di Patologia Animale, Università di Torino.

I muscoli dell'intera carcassa erano colpiti. La lesione caratterizzata da sostituzione del tessuto muscolare con tessuto adiposo, andava da un grado lieve tale da confondersi con la normale mazzatura del muscolo, a un quadro decisamente più grave quando l'infiltrazione era tale da rendere maggiormente evidente la striatura longitudinale in sezione sagittale e da conferire un aspetto reticolato in sezione trasversale.

Campioni di diversi muscoli sono stati sottoposti ad indagini istopatologiche, enzimatiche ed immunoistochimiche. Complessivamente i quadri istologici osservati si sono dimostrati piuttosto omogenei. Il reperto predominante è stata l'infiltrazione di adipociti tra le miofibre, spesso sofferenti ai margini delle aree gravemente infiltrate. Questo reperto suggerisce la diagnosi di miopatia lipomatosa. Purtroppo non è stato possibile stabilire il meccanismo eziopatogenetico alla base di queste lesioni muscolari, che rimane tuttora sconosciuto. Il coinvolgimento dell'intera carcassa, senza lesioni in altri distretti, rende improbabile la causa neurogena o vascolare. Il ruolo della componente genetica rimane da chiarire, benché uno studio approfondito in merito sia tuttora in corso.

## PAROLE CHIAVE

Muscolo, miopatia, grasso, bovino Piemontese.

La miopatia lipomatosa è una patologia degenerativa/infiltrativa caratterizzata dalla sostituzione delle fibre muscolari con tessuto adiposo, considerata un reperto occasionale in sede di macellazione<sup>1,2,3</sup>.

Tre carcasse di bovine Piemontesi regolarmente macellate, provenienti da diverse aziende della regione, rispettivamente di 8, 10 e 11 anni sono state segnalate al Dipartimento di Patologia Animale, Università di Torino, per alterazioni all'apparato muscolo scheletrico visibili dopo scuoiatura. L'indagine genealogica non ha permesso di identificare un antenato comune cui far risalire l'origine del difetto.

Alla visita ante-mortem nessun animale aveva mostrato deficit di andatura o sintomi riferibili a lesioni neuro-muscolari.

I muscoli dell'intera carcassa mostravano una deposizione, più o meno abbondante di grasso nello stroma, in modo tale da rendere maggiormente evidente la striatura longitudinale in sezione sagittale (Fig. 1a) e l'aspetto reticolato in sezione trasversale. Inoltre erano presenti, soprattutto a livello dei muscoli del tronco, formazioni nodulari biancastre simil linfoidi dalla consistenza lardacea ed untuosa al tatto (Fig.

1b, c). In alcuni casi si presentavano come cordoni di tessuto muscolare circondati da guaina di tessuto fibro-adiposo, in altri casi come cordoni di solo tessuto adiposo compatto collegati tra loro o con i fasci muscolari normali da un reticolo fibroso. Suddette formazioni sembravano sostituire gruppi di fasci muscolari, come possibile evoluzione finale di un processo degenerativo delle miofibre.

Campioni di diversi muscoli (diaframma, pettorale superficiale e profondo, intercostali, gruppo sternocleidomastoideo e vasto laterale) sono stati congelati in isopentano preraffreddato in azoto liquido e sezionati al criostato per ottenere sezioni istologiche dello spessore di 10 µm da sottoporre ad indagini istopatologiche ed enzimatiche.

Per valutare la morfologia del tessuto muscolare sono state eseguite le seguenti colorazioni: Ematossilina-Eosina, Tricromica di Gomori, Acido Periodico di Schiff (PAS), Sudan e Oil Red.

Per valutare l'attività enzimatica sono state effettuate le seguenti reazioni: Nicotinamide adenina di nucleotide ridotto (NADH (H<sup>+</sup>)); Succinato deidrogenasi (SDH); Citocromo ossidasi (COX); Adenosintrifosfatasi (ATPasi) per distinguere i due tipi di miofibre presenti nel tessuto muscolare (tipo I e II). Inoltre indagini immunoistochimiche con metodo avidina biotina perossidasi sono state svolte per tipizzare gli infiltra-

Autore per la corrispondenza:

Elena Biasibetti (elena.biasibetti@unito.it).

ti infiammatori e valutare l'espressione del complesso di immunoistocompatibilità di classe I (MHC1) utilizzando i seguenti anticorpi commerciali: CD79 - mouse anti-CD79; 1 in 25, Dako, Glostrup, Denmark; code n. M7051 (4); CD4 - mouse anti-CD4; 1 in 100, VMRD Inc., Pulman WA- USA, cell line CACT138A (5); CD8 - mouse anti-CD8; 1 in 100; VMRD Inc., Pulman WA- USA, cell line CACT80C<sup>6</sup> e MHC1 - mouse anti-MHC1, 1 in 200; VMRD Inc., Pulman WA- USA, cell line H58A (7).

L'esame istologico ha mostrato in tutti i muscoli esaminati quadri d'infiltrazione di tessuto adiposo nella compagine del tessuto muscolare di grado variabile e aumento del connettivo (Fig. 1d, e). Si sono riscontrati inoltre degenerazione miofibrile (fibre pre-necrotiche/necrotiche), eterogeneità di diametro tra le fibre, presenza di nuclei interni e fibre angolari. Focolai di flogosi non purulenta e diffusa neoformazione vascolare erano poi presenti nell'interstizio. All'esame istologico le formazioni nodulari apparivano composte esclusivamente da tessuto adiposo, ma circondate da tessuto fibroso. Il tessuto muscolare adiacente, sebbene macroscopicamente non avesse mostrato alterazioni, si è rivelato infiltrato in modo variabile da adipociti.

Le reazioni immunoistochimiche hanno evidenziato una forte positività del tessuto, sia a livello citoplasmatico che nel sarcolemma, verso l'MHC I (Fig. 1f) e, in minor misura, presenza di cellule mononucleate compatibili con linfociti B o linfociti T.

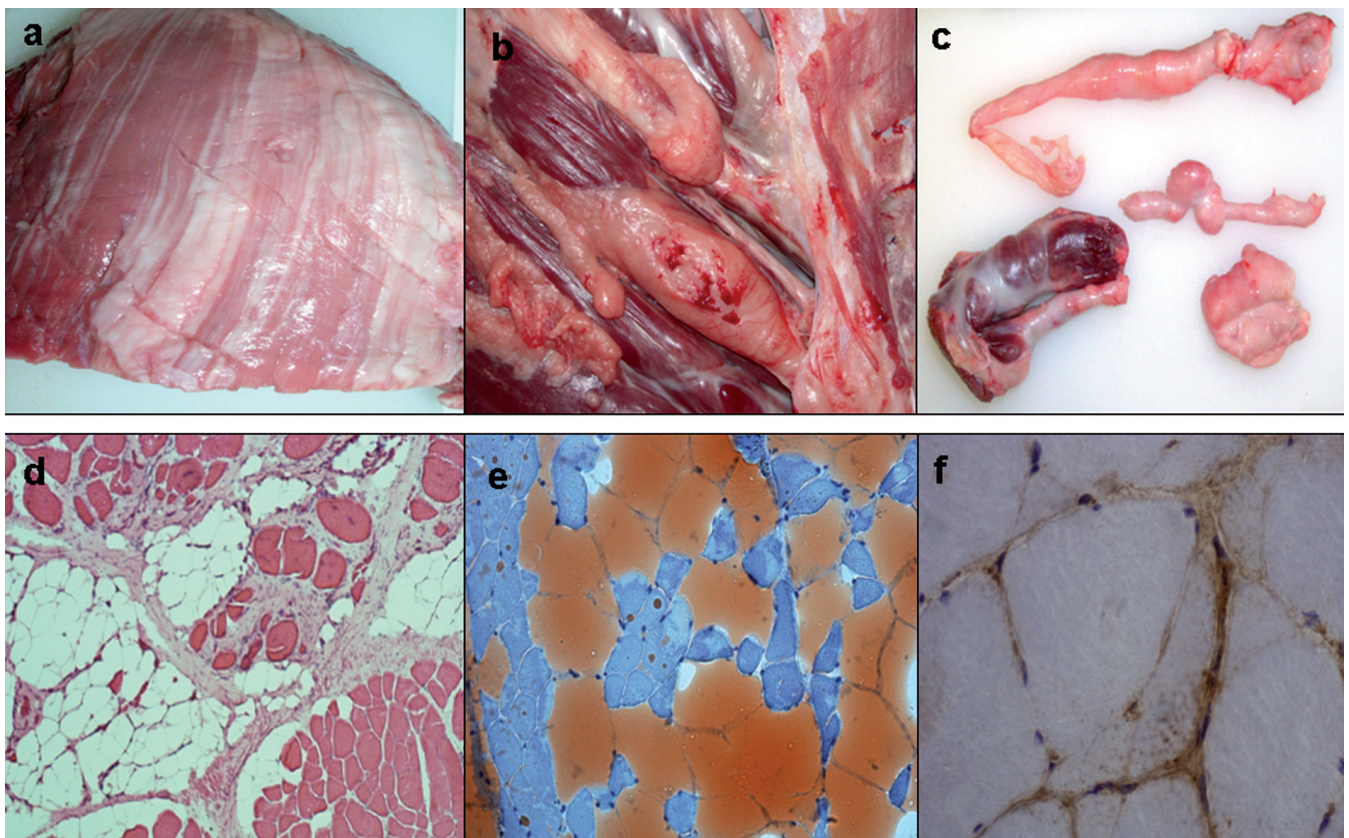
Complessivamente i quadri istologici osservati si sono dimostrati piuttosto omogenei. Il reperto predominante è stato

l'infiltrazione di adipociti tra le miofibre, spesso sofferenti ai margini delle aree gravemente infiltrate. Questo reperto suggerisce di classificare questa patologia come una miopatia lipomatosa<sup>8,9</sup>.

Alcuni autori classificano questa patologia muscolare come steatosi<sup>10</sup>. Marcato (2002) suggerisce comunque improprio questo termine in quanto, universalmente, si definisce come steatosi una patologia acquisita di tipo regressivo in cui i trigliceridi, progressivamente accumulati in vacuoli all'interno delle cellule, le occupano totalmente sino a determinarne necrosi. È bene quindi riservare il termine steatosi alla degenerazione grassa delle miofibre per cause acquisite come spesso avviene in caso di avvelenamento da fosforo o in caso di cachessia<sup>11</sup>. Sempre secondo il Marcato, in caso di miopatia lipomatosa si ha, invece, vera e propria sostituzione del tessuto muscolare atrofico con adipociti, che appaiono quindi numericamente aumentati<sup>11</sup>.

La classificazione delle miopatie, basata solo sulle lesioni morfologiche non è completa e molte classificazioni si basano infatti sull'eziologia. Le miopatie possono pertanto essere classificate in congenite o acquisite; spesso nei bovini sono dovute a deficit nutrizionali o ingestione di miotossine<sup>3</sup>. Come nella classificazione delle miopatie umane anche la classificazione delle miopatie negli animali è ancora soggetta a modifiche in base ai risultati degli studi genetici e patogenetici<sup>10</sup>.

Circa l'eziopatogenesi della miopatia lipomatosa, la tendenza in letteratura è di escludere fenomeni carenziali o cause vascolari come cause primarie, indicando invece un coinvol-



**Figura 1** - a: Muscolo vastus lateralis. Sezione sagittale che mostra la deposizione di grasso nello stroma, che rende maggiormente evidente la striatura longitudinale. b, c: formazioni nodulari biancastre simil linfoidi dalla consistenza untuosa al taglio, presunto esito finale di sostituzione adiposa di singoli fasci muscolari. d, e: infiltrazione di tessuto adiposo nella compagine del tessuto muscolare. Ematossilina-eosina 100x (d). Oil Red 100x (e). f: positività immunoistochimiche del sarcolemma verso MHC I. Immunoistochimica MHC1 - mouse anti-MHC1, 1 in 200; VMRD Inc., Pulman WA - USA, cell line H58A, 600x.

gimento primario di fattori genetici, analogamente a quanto osservato nel suino<sup>12,13</sup>. Alcuni autori propendono invece per la multifattorialità della patogenesi, con il sospetto di un contributo di fattori vascolari e nutrizionali su una base data dalla predisposizione genetica<sup>3</sup>. In questi casi non è stato possibile stabilire il meccanismo eziopatogenetico. Il coinvolgimento dell'intera carcassa, senza lesioni in altri organi, rende improbabile la causa vascolare. Il ruolo della componente genetica rimane da chiarire, benché uno studio approfondito in merito sia tuttora in corso.

### ■ Three cases of lipomatous myopathy in Piedmontese cattle: pathological findings.

#### SUMMARY

This study describes macroscopical and histological features of three cases of lipomatous myopathy (substitution of muscle tissue with adipose tissue) in Piedmontese cows. Several muscle samples, frozen in isopentane cooled using liquid nitrogen, were submitted to histological investigations. Slide sections (10 µm thick) were obtained using a cryostat and stained by the following histological and histochemical techniques: haematoxylin and eosin (H&E); modified Gomori trichrome; periodic acid–Schiff (PAS); red Oil stains, Sudan black, Sudan III, Cytochrome C oxidase (COX); succinate dehydrogenase (SDH), and reduced nicotinamide adenine dinucleotide–tetrazolium reductase (NADH-TR). Immunohistochemical stainings were also made employing specific antibodies to characterize the inflammatory cells.

Gross pathology showed a different grade of infiltration of adipose tissue involving multiple or single muscles. Morphological staining revealed an infiltration of adipose tissue varying in distribution and severity, changes in muscle fiber size, and increased numbers of fibers with centrally located nuclei suggesting muscle degeneration-regeneration. Necrosis and non suppurative inflammatory cells were also seen. Furthermore, proliferation of connective tissue and non-specific myopathic changes, were present too. Histochemical stains confirmed this fat deposition but didn't reveal metabolic changes in affected muscles. Sporadic focal immunopositivity for CD79, CD8, CD4 and MCHI were detected.

Common usage of the world myopathy is restrict to describe a disorder of muscle generally characterized by different grade of degeneration of muscle fibers and high serum level of muscle enzymes. Myopathy are divided into several entities, such as diseases of the lower motor neuron, dystrophies, congenital myopathies, nutritional myopathies, metabolic and endocrine myopathies, inflammatory myopathies, and a

miscellaneous group. Similarly to humans the classification of myopathies in animals is subject to modification based on findings of on-going genetic and pathogenetic studies as well as on changes in disease definitions. Vascular factors and neurogenic causes seem not involved in the pathogenesis of these cases of lipomatous myopathy. In next step the authors will delve into the role of genetic factors.

#### KEY WORDS

Muscle, adipous tissue, Piedmontese cattle.

#### Bibliografia

1. Albrecht E., Wegner J. Ender K. (1996) A new technique for objective evaluation of marbling in beef. *Fleischwirtschaft*, 76:1145–1148.
2. McDonald T. and Chen Y. R. (1990) Application of morphological image processing in agriculture. *Trans. ASAE*, 33: 1345–1352.
3. Valentine B.A. (2007) .Skeletal muscle In: Mc Gavin M.D, Zachary J.F. *Pathologic basis of veterinary disease*. Ed. Mosby, 4th ed. 973–1041, Saint Louis.
4. Mason D.Y, Cordell J.L, Tse A.G.D, van Dongen J.J.M, van Noesel J.M, Micklem K, et al. (1991) The Ig M-associated protein mb-1 as a marker of normal and neoplastic B cells. *J Immunol*, 147:2474–82.
5. Davis W.C., Hamilton M. J., Park Y. H., Larsen R. A., Wyatt C. R. and Okada K. (1990) Ruminant leukocyte differentiation molecules. In: *MHC, Differentiation Antigens and Cytokines in Animals and Birds*. Monographs in Animal Immunology. Ed. O.Barta. 47-70 BAR-LAB, Blacksburg, VA.
6. Gutierrez M., Forster F.I., McConnell S.A., Cassidy J.P., Pollock J.M., Bryson D.G. (1999) The detection of CD2+, CD4+, CD8+, and WC1+ T lymphocytes, B cells and macrophages in fixed and paraffin embedded bovine tissue using a range of antigen recovery and signal amplification techniques. *Vet Immunol Immunopathol*, 71:321–34.
7. Davis W.C, Marusic S, Lewin H.A, Splitter G.A, Perryman L.E, McGuire T.C, Gorham J.R. (1987) The development and analysis of species specific and cross reactive monoclonal antibodies to leukocyte differentiation antigens and antigens of the major histocompatibility complex for use in the study of the immune system in cattle and other species. *Vet Immunol Immunopathol*, 15: 337–76.
8. Kobayashi M., Nakamura A., Hasegawa D., Fujita M., Orima H., Takeda S. (2009) Evaluation of dystrophic doh pathology by fat-suppressed T2-weighted imaging. *Muscle Nerve*, 40: 815–26.
9. Olby N.J., Sharp N.J., Nghiem P.E., Keene B.W., DeFrancesco T.C., Sidley J.A., Koregay J.N., Schatzberg S.J. (2011) Clinical progression of X-linked muscular dystrophy in two German Shorthaired Poiners. *J Am Vet Med Assoc*, 238:207–12.
10. Van Vleet J.F., Valentine B.A. (2007) Muscle and tendon. In: *Jub, Kennedy and Palmer's. Pathology of domestic animals*. Ed. M.Grant Maxie, 5th ed. 185 –281, Edinburgh.
11. Marcato S., Rosmini R., Bazzo R. (2002) Sistema locomotore: muscoli. In: *Marcato S. Patologia sistematica veterinaria*. Ed. Edagricole, 1th ed. 1095–1196, Bologna.
12. Schwab C.R., Mote B.E., Du Z.Q., Amoako R., Baas T.J., Rothschild M.F. (2008) An evaluation of four candidate genes for use in selection programmes aimed at increased intramuscular fat in Duroc swine. *J Anim Breed Genet*, 126: 228–236.
13. Schwab C. R., Baas T. J., Stalder K. J., Nettleton D. (2009) Results from six generations of selection for intramuscular fat in Duroc swine using real-time ultrasound. I. Direct and correlated phenotypic responses to selection. *J Anim Sci*, 87:2774–2780.