

Un caso di mucopolisaccaridosi VI nel gatto

RIASSUNTO

Un gatto domestico a pelo corto con mantello colorpoint, maschio intero di 7 mesi d'età, veniva visitato per problemi locomotori e respiratori. L'animale presentava alterazioni scheletriche (disarmonia tra testa e resto del corpo, deformità del torace, osteopenia ed osteofitosi vertebrale, artrite), oculari (opacità corneale) ed ematologiche (vacuolizzazioni e granulazioni nel citoplasma dei neutrofili). Nei mesi successivi si assisteva alla comparsa di manifestazioni neurologiche e all'aggravamento delle alterazioni scheletriche. Una grave crisi respiratoria provocava la morte del gatto all'età di 2 anni e 7 mesi. Sulla base dei risultati dei test metabolici eseguiti sulle urine e di quelli genetici realizzati sul pelo, veniva formulata una diagnosi di mucopolisaccaridosi VI. Si tratta del quinto caso segnalato in Italia, unico paese europeo in cui la malattia è stata sino ad ora riportata.

INTRODUZIONE

Le mucopolisaccaridosi (MPSs) sono malattie da accumulo lisosomiale (LSD) dovute a deficit di enzimi implicati nel catabolismo dei glicosaminoglicani (GAGs), componenti ubiquitari del tessuto connettivo¹. Si conoscono diverse forme spontanee di MPS, segnalate nell'uomo, cane, gatto, capra, topo e ratto, ognuna delle quali caratterizzata dalla carenza di un particolare enzima. La mancata degradazione dei GAGs induce il loro accumulo lisosomiale ed extracellulare, comportando rigonfiamento di cellule e tessuti interessati¹ ed escrezione di elevate quantità di GAGs nelle urine. Le MPSs hanno decorso cronico e progressivo con interessamento scheletrico, articolare, oculare e cardiaco. L'età di insorgenza e la gravità variano sia tra i diversi tipi di MPSs sia nell'ambito dello stesso tipo, in relazione alla mutazione genetica che condiziona il livello di attività enzimatica residua. La forma più frequente nel gatto è la MPS VI ed è omologa alla malattia dell'uomo conosciuta come sindrome di Maroteaux-Lamy. Questa malattia autosomica recessiva è caratterizzata da bassi livelli o dalla completa assenza dell'enzima lisosomiale N-acetilgalattosamina-4-solfatasi (4S) - o arilsulfatasi B - che comporta accumulo di dermatan solfato (DS)¹. Nel gatto sono state descritte due diverse mutazioni del gene che codifica per l'enzima 4S, localizzato nel cromosoma A1: la prima è la sostituzione di un amminoacido (leucina al posto della prolina) in posizione 476 (mutazione L476P), la seconda comporta la sostituzione di un amminoacido (acido aspartico al posto dell'asparagina) in posizione 520 (mutazione D520N)^{2,3,4}. Le colture di fibroblasti dei gatti omozigoti per l'allele L476P rivelano bassissimi livelli di 4S (<0,5%) e questi soggetti manifestano la forma classica di MPS VI con accumulo lisosomiale in diversi tipi di cellule; quelle degli omozigoti per l'allele D520N hanno un'attività di 4S più elevata (circa 4,6%) e questi soggetti sono fenotipicamente normali e presentano vacuolizzazione lisosomiale soltanto in alcuni condrociti. In alcuni gatti la mutazione può interessare entrambi gli alleli in forma eterozigote (eterozigoti composti L476P/D520N); in coltura si osserva in questo caso un'attività del 4S intermedia (3,1%) e, negli animali affetti, un maggiore coinvolgimento dei condrociti con elevata prevalenza di artropatie in assenza di altre patologie^{4,5}.

L'iter diagnostico per la MPS VI prevede una serie di tappe successive, che partono dal sospetto clinico di LSD e passano attraverso diverse indagini di laboratorio. Queste iniziano con uno screening metabolico finalizzato all'identificazione di un'aumentata escrezione urinaria dei GAGs¹. A tale scopo possono essere utilizzati sia test semiquantitativi (come il Berry spot test- BST) che quantitativi (come il dimetil-metilene Blu test o DMB)⁶. I GAGs eventualmente riscontrati nelle urine vengono successivamente identificati mediante separazione elettroforetica o cromatografia in strato sottile⁶. La diagnosi definitiva viene formulata mediante la dimostrazione della carenza enzimatica (su siero, leucociti, colture di fibroblasti o cellule epatiche) o della mutazione genetica (sul DNA)¹.

Alessandra Capri¹, DVM PhD

Marisa Masucci, DVM PhD

Nicola Maria Iannelli, DVM

Maria Grazia Pennisi, DVM, PhD

Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria,

Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Messina,

Polo Universitario Annunziata, 98168 Messina, Italia

¹ Libera professionista, Reggio Calabria

“Articolo ricevuto dal Comitato di Redazione il 29/11/2011 ed accettato per la pubblicazione dopo revisione il 07/05/2012”.

La MPS VI è stata segnalata in diversi continenti, soprattutto nel Siamese ma anche in incroci e soggetti a pelo lungo non sempre con mantello colorpoint^{2,7,8,9,10,11,12,13,14}. L'Italia è il solo Paese europeo in cui siano stati riportati alcuni casi apparentemente non correlati tra loro dal punto di vista genealogico^{2,11,12,14}. In questo articolo viene descritto un caso di MPS VI in un gatto domestico a pelo corto, mantello colorpoint, nato in Sicilia allo scopo di portare l'attenzione del clinico su questa malattia genetica ed ereditaria che potrebbe essere sottostimata nella pratica.



FOTO 1 - Radiografia del rachide in proiezione latero-laterale del gatto a 12 mesi di età. Si osservano: lordosi toracica, *pectus excavatum* e riduzione della radiopacità vertebrale, soprattutto a carico del segmento lombare (frecche corte). Sono presenti osteofiti a livello delle faccette articolari del rachide toracolombare e del margine ventrale delle vertebre cervicali e toraciche (frecche lunghe).



FOTO 2 - Gatto a 18 mesi di età: testa larga, orecchie piccole e muso quadrato. Sono inoltre evidenti i segni dell'epifora.

DESCRIZIONE DEL CASO CLINICO

Un gatto domestico a pelo corto con mantello colorpoint, maschio intero, di 7 mesi d'età veniva visitato a causa di anoressia, riluttanza al movimento e frequenti episodi di dispnea. Era l'unico sopravvissuto di una cucciolata nata da una gatta randagia in provincia di Messina. La causa della morte dei fratelli, avvenuta nei primi mesi di vita, risultava sconosciuta.

All'esame fisico si riscontravano: disarmonia scheletrica (testa grande e deforme non proporzionata al resto del corpo che presentava microsomia), lordosi toracica, *pectus excavatum* e lieve opacità corneale. Il gatto tendeva a rimanere rannicchiato e mostrava postura plantigrada e riluttanza al movimento. Alla manipolazione dei gomiti e dei garretti si apprezzava scricchiolio e si induceva reazione da dolore. La radiografia del rachide mostrava lieve riduzione della radiopacità vertebrale, lordosi toracica, *pectus excavatum* e osteofitosi sul margine ventrale delle vertebre cervicali e toraciche. Non si riscontravano alterazioni radiografiche a carico della cavità toracica, mentre si evidenziava una lieve osteopenia a livello degli arti. Era presente anemia normocitica normocromica e leucopenia, entrambe di grado moderato; il citoplasma dei neutrofilii appariva vacuolizzato e con fini granulazioni basofile. Tutti i parametri del profilo biochimico erano normali e i test sierologici per FIV e FeLV risultavano negativi. La visita cardiologica (completa di elettrocardiogramma ed ecocardiografia) e l'ecografia addominale non evidenziavano anomalie. Sulla base delle alterazioni scheletriche, oculari ed ematologiche si formulava un sospetto diagnostico di LSD. I proprietari non davano il consenso all'esecuzione dello screening per malattie metaboliche per motivi di ordine economico ma autorizzavano la conservazione di aliquote di sangue, urine e campioni di pelo prelevati.

Una rivalutazione a 12 mesi di età confermava gli episodi di dispnea. All'esame fisico non si evidenziavano nuove anomalie. La radiografia del rachide mostrava un'ulteriore riduzione della radiopacità dei corpi vertebrali e la formazione di osteofiti anche sulle faccette articolari (Foto 1).

Nei mesi successivi gli episodi di dispnea erano diventati più frequenti e accompagnati ad accessi di tosse; i proprietari ricorrevano, di loro iniziativa, all'uso di colliri a base di tobramicina e desametasone per trattare una copiosa epifora bilaterale associata a lieve congestione congiuntivale, ottenendo temporanei miglioramenti.

Alla rivalutazione a 18 mesi si apprezzavano depressione, disorientamento e grave dispnea, che peggiorava durante la palpazione del torace. La disarmonia scheletrica era meno evidente ma persisteva la deformità della testa (Foto 2). Le alterazioni dell'andatura si erano aggravate, con

estrema riluttanza al movimento ed evidente zoppia dell'arto anteriore sinistro. Il gomito sinistro appariva tumefatto, anchilosato e dolente. I muscoli degli arti posteriori erano ipotrofici e la rotula sinistra lussata medialmente. Oltre alle alterazioni dello stato mentale già descritte, l'esame neurologico rilevava la mancanza delle reazioni posturali sui quattro arti, con normo- o iper-reflessia e iperestesia conseguente all'evocazione del riflesso flessore sui quattro arti e di quello perineale. Durante l'esame oftalmologico le vie di drenaggio naso-lacrimali risultavano pervie e con la lampada a fessura si apprezzavano piccoli cristalli a livello dello stroma corneale, responsabili dell'opacità. L'animale manifestava inoltre intolleranza alla luce diretta. L'esame radiologico confermava le precedenti anomalie ed evidenziava una sempre maggiore radiotrasparenza vertebrale, fusione tra atlante ed epistrofeo e frattura epifisaria al gomito sinistro. L'esame emocromocitometrico ed il profilo biochimico risultavano normali. Venivano prescritti riposo forzato in gabbia e terapia analgesica (meloxicam 0,05 mg/kg PO SID).

All'età di 2 anni e 7 mesi il gatto moriva nel corso di una grave crisi respiratoria. I proprietari informavano gli autori del decesso e non acconsentivano all'autopsia.

Per confermare il sospetto clinico si procedeva all'esecuzione dei test per le LSD (PennGen Laboratories-Pennsylvania, USA) sui campioni biologici conservati allo scopo. Sulle urine veniva eseguito uno screening metabolico per la ricerca di amminoacidi, acidi organici, carboidrati e mucopolisaccaridi. Solo quest'ultimo test (Berry spot test) risultava fortemente positivo. Veniva quindi realizzato un esame elettroforetico per separare e precipitare i GAGs, sulla base del quale si riscontravano elevate concentrazioni di DS e piccoli quantitativi di condroitin solfato. Il test genetico, effettuato sul pelo per le mutazioni in posizione 476 e 520, rilevava la presenza della mutazione in forma omozigote in posizione 476.

DISCUSSIONE

La MPS VI presenta nel gatto un esordio precoce di caratteristici segni clinici che coinvolgono principalmente scheletro, articolazioni, occhio, SNC e sistema cardiovascolare. Le alterazioni scheletriche interessano le aree di ossificazione endochondrale, soprattutto nelle vertebre, con riduzione della radiopacità¹⁵ e progrediscono con l'età come in questo caso clinico. Spondilosi, anchilosi secondaria all'artrite, sublussazioni di anca o rotula, fratture patologiche e *pectus excavatum* compromettono progressivamente, come in questo gatto, la locomozione, la funzione cardiorespiratoria e la qualità della vita¹⁵.

La vacuolizzazione lisosomiale delle cellule connettivali dell'occhio comporta opacità corneale e ispessimento palpebrale¹⁶.

Non è chiara la genesi della fotofobia osservata nel caso descritto e mai riportata in letteratura, mentre è probabile che l'epifora, non descritta nella MPS VI dell'uomo o del gatto^{16,17}, fosse di origine flogistica, considerato l'effetto positivo di antibiotici e corticosteroidi.

Le alterazioni cardiologiche osservate nella MPS VI, soprattutto nei gatti di età più avanzata¹⁸, non venivano riscontrate in questo soggetto, sottoposto a visita cardiologica solo a 7 mesi di età.

Nella MPS VI le manifestazioni neurologiche derivano generalmente da compressione midollare secondaria a lesioni proliferative del rachide. Solo alcuni segni (deficit delle reazioni posturali con normo- o iper-reflessia dei quattro arti) riscontrati nel caso descritto potrebbero derivare da compressione spinale (C1-C5) ma non le alterazioni dello stato mentale, indicative di disfunzione encefalica. Soltanto in due casi di MPS VI felina^{9,14} sono state segnalate manifestazioni di malattia intracranica (convulsioni e depressione), e sia in questi soggetti che in altri gatti con MPS VI²⁰ sono state riscontrate alterazioni istopatologiche caratteristiche a carico delle meningi e della corteccia cerebrale^{13,19}. L'infiltrazione delle radici nervose e dei gangli con fibroblasti vacuolizzati, segnalata nella MPS VI¹⁴, potrebbe infine essere responsabile dell'ipersensibilità riportata in questo gatto.

Dei precedenti quattro casi di MPS VI segnalati in Italia, soltanto uno è stato tipizzato geneticamente, come omozigote L476P². Tuttavia, i bassissimi livelli di attività del 4S riscontrati negli altri tre gatti, fanno ipotizzare lo stesso tipo di mutazione^{11,12,14}. Tale mutazione, responsabile della forma classica di MPS VI, sembra essere rara o limitata solo ad alcune linee di sangue, come dimostrato dalle scarse segnalazioni di forme gravi della malattia nel gatto e dal mancato riscontro di tale mutazione in uno studio eseguito su 101 gatti Siamesi di diversi continenti, che però non ha riguardato l'Italia¹⁰. Non è noto se la mutazione D520N, che nello stesso studio ha presentato una prevalenza dell'11,4%, possa determinare fenomeni artrosici, come avviene per il meno frequente genotipo eterozigote composto dove in entrambe le posizioni (476 e 520) è presente la mutazione in forma eterozigote¹⁰.

I soggetti eterozigoti composti, sono fenotipicamente normali, ma predisposti a malattie articolari degenerative; per tale motivo difficilmente si arriva a un sospetto clinico di malattia genetica nei loro confronti.

Di particolare interesse è il segnalamento solo in Italia dei cinque casi europei di MPS VI, tutti ascrivibili alla mutazione in posizione 476.

Ciò suggerisce l'opportunità di uno screening ge-

netico della popolazione Siamese e in generale di quella a mantello colorpoint nel nostro Paese, per avere dati sulla prevalenza di entrambe le mutazioni e, di conseguenza, sul rischio di comparsa di eterozigoti composti per i quali il sospetto clinico di malattia genetica ereditaria risulta più difficile rispetto a quello della forma classica caratterizzata soprattutto dalle gravi anomalie scheletriche ad esordio giovanile e decorso cronico progressivo.

RINGRAZIAMENTI

Gli autori ringraziano il Dott. Urs Giger e la Dott.ssa Angie (Huff) Erat per i test genetici e lo screening metabolico (eseguiti presso il Metabolic Screening Laboratory, Section of Medical Genetics dell'Ospedale Veterinario dell'Università della Pennsylvania), il Prof. Massimo De Majo per le indagini ecografiche ed il Dott. Massimo Venza per la consulenza oculistica.

CONFLITTI D'INTERESSE

Gli autori dichiarano che non esistono conflitti di interesse.

Parole chiave

Mucopolisaccaridosi VI, gatto, test genetici.

I A case report of feline mucopolisaccaridosi VI

Summary

A DSH colorpoint kitten, 7 months old, was admitted because of locomotor and respiratory dysfunction. Skeletal (head-body disharmony, chest deformities, osteopenia, vertebral osteophytes, arthritis), ocular (corneal clouding) and hematological (cytoplasmic vacuolation and granules in neutrophils) abnormalities were observed. In the following months neurologic signs started and the skeletal abnormalities worsened. Severe respiratory failure was the cause of death of cat at 2 years and 7 months of age. A suspected diagnosis of mucopolisaccaridosi VI (MPS-VI) was done by clinical visit and the pathology was successively confirmed by metabolic tests on urine and the genetic test on hair. This is the fifth feline case of MPS-VI reported in Italy. Italy is the only country in Europe where the disease has so far been reported in cats.

Key words

Mucopolisaccaridosi VI, cat, genetic tests.

BIBLIOGRAFIA

1. Haskins M, Giger U: Lysosomal Storage diseases. In: Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML Ed. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. Burlington, Elsevier Academic Press, 2008, pp. 731-749.
2. De Luca T, Minichiello L, Leone A et al. Preliminary molecular analysis of a case of feline mucopolisaccaridosi VI. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 196: 1177-1182, 1993.
3. Yogaligam G, Litjens T, Bielicki J et al. Feline mucopolisaccaridosi type VI. Characterization of recombinant N-acetylgalactosamine 4-sulfatase and identification of a mutation causing the disease. *The Journal of Biological Chemistry* 271: 27259-27265, 1996.
4. Yogaligam G, Hopwood JJ, Crawley A et al. Mild feline mucopolisaccaridosi type VI. Identification of an N-acetylgalactosamine-4-sulfatase mutation causing instability and increased specific activity. *The Journal of Biological Chemistry* 273: 13421-13429, 1998.
5. Crawley AC, Yogaligam G, Muller VJ et al. Two mutations within a feline mucopolisaccaridosi type VI colony cause three different clinical phenotypes. *Journal of Clinical Investigation* 101: 109-119, 1998.
6. Mabe P, Valiente A, Soto V et al. Evaluation of reliability for urine mucopolisaccaridosi screening by dimethylmethylene blue and Berry spot tests. *Clinica Chimica Acta* 345 (1-2): 135-140, 2004.
7. Jezyk PF, Haskins ME, Patterson DF et al. Mucopolisaccaridosi in a cat with arylsulfatase B deficiency: a model of Maroteaux-Lamy syndrome. *Science* 198: 834-836, 1977.
8. Cowell KR, Jezyk PF, Haskins ME, et al. Mucopolisaccaridosi in a cat. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 169: 334-339, 1976.
9. Breton L, Guerin P, Morin M. A case of mucopolisaccaridosi VI in a cat. *Journal of the American Animal Hospital Association* 19: 891-896, 1983.
10. Crawley AC, Muntz FH, Haskins ME et al. Prevalence of mucopolisaccaridosi type VI mutations in Siamese cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 17: 495-498, 2003.
11. Di Natale P, Annella T, Daniele A et al. Animal models for lysosomal storage diseases: a new case of feline mucopolisaccaridosi VI. *Journal of Inherited Metabolic Disease* 15: 17-24, 1992.
12. Macri B, Marino F, Mazzullo G et al. Mucopolisaccaridosi VI in a Siamese/Short-Haired European Cat. *Journal of Veterinary Medicine* 49: 438-42, 2002.
13. Beekman GK. Mucopolisaccaridosi VI in a kitten: a case report and discussion of feline Maroteaux-Lamy syndrome. *Feline Practice* 21:7-11, 1993.
14. Finotello R, Sbrana S, Mazzei M et al. Un caso di mucopolisaccaridosi tipo VI (sindrome di Maroteaux-Lamy) in un gatto. 62° Congresso Internazionale Multisala SCIVAC, Rimini, 2009, p. 587.
15. Konde LJ, Thrall MA, Gasper P et al. Radiographically visualized skeletal changes associated with mucopolisaccaridosi VI in cats. *Veterinary Radiology and Ultrasound* 28: 22, 1987.
16. Aguirre G, Stramm L, Haskins ME. Feline mucopolisaccaridosi VI: general ocular and pigment epithelial pathology. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* 24: 991-1007, 1983.
17. Ashworth JL, Biswas S, Wraith E et al. Mucopolisaccaridosi and the eye. *Survey of Ophthalmology* 51: 1-17, 2006.
18. Sleeper MM, Kusiak CM, O'Donnell P et al. Clinical characterization of cardiovascular abnormalities associated with feline mucopolisaccaridosi I and VI. *Journal of Inherited Metabolic Disease* 31: 42, 2008.
19. Haskins ME, Aguirre GD, Jezyk PF et al. The pathology of the feline model of mucopolisaccaridosi VI. *American Journal of Pathology* 101: 657-674, 1980.
20. Walkley SU, Thrall MA, Haskins ME et al. Abnormal neuronal metabolism and storage in mucopolisaccaridosi type VI (Maroteaux-Lamy) disease. *Neuropathology and Applied Neurobiology* 31: 536-544, 2005.