



FONDAZIONE INIZIATIVE ZOOPROFILATTICHE E ZOOTECHNICHE  
BRESCIA

# **ANIMALI D'AFFEZIONE**

## **nuove frontiere nella ricerca su problemi comportamentali, neurofisiologia e genetica**

A cura di: **Jacopo Riva, Corrado Carezzi, Marina Verga**

EDITO A CURA DELLA  
FONDAZIONE INIZIATIVE ZOOPROFILATTICHE  
E ZOOTECHNICHE - BRESCIA

**83**

## ANIMALI D'AFFEZIONE

Nella stessa collana sono stati pubblicati i seguenti volumi:

- 1 - 1979 Infezioni respiratorie del bovino
- 2 - 1980 L'oggi e il domani della sulfamidoterapia veterinaria
- 3 - 1980 Ormoni della riproduzione e Medicina Veterinaria
- 4 - 1980 Gli antibiotici nella pratica veterinaria
- 5 - 1981 La leucosi bovina enzootica
- 6 - 1981 La «Scuola per la Ricerca Scientifica» di Brescia
- 7 - 1982 Gli indicatori di Sanità Veterinaria nel Servizio Sanitario Nazionale
- 8 - 1982 Le elmintiasi nell'allevamento intensivo del bovino
- 9 - 1983 Zoonosi ed animali da compagnia
- 10 - 1983 Le infezioni da *Escherichia coli* degli animali
- 11 - 1983 Immunogenetica animale e immunopatologia veterinaria
- 12 - 1984 5° Congresso Nazionale Associazione Scientifica di Produzione Animale
- 13 - 1984 Il controllo delle affezioni respiratorie del cavallo
- 14 - 1984 1° Simposio Internazionale di Medicina veterinaria sul cavallo da competizione
- 15 - 1985 La malattia di Aujeszky. Attualità e prospettive di profilassi nell'allevamento suino
- 16 - 1986 Immunologia comparata della malattia neoplastica
- 17 - 1986 6° Congresso Nazionale Associazione Scientifica di Produzione Animale
- 18 - 1987 Embryo transfer oggi: problemi biologici e tecnici aperti e prospettive
- 19 - 1987 Configlicoltura: tecniche di gestione, ecopatologia e *marketing*
- 20 - 1988 Trentennale della Fondazione Iniziative Zooprofilattiche e Zootecniche di Brescia, 1956-1986
- 21 - 1989 Le infezioni erpetiche del bovino e del suino
- 22 - 1989 Nuove frontiere della diagnostica nelle scienze veterinarie
- 23 - 1989 La rabbia silvestre: risultati e prospettive della vaccinazione orale in Europa
- 24 - 1989 Chick Anemia ed infezioni enteriche virali nei volatili
- 25 - 1990 Mappaggio del genoma bovino
- 26 - 1990 Riproduzione nella specie suina
- 27 - 1990 La nube di Chernobyl sul territorio bresciano
- 28 - 1991 Le immunodeficienze da retrovirus e le encefalopatie spongiformi
- 29 - 1991 La sindrome chetotica nel bovino
- 30 - 1991 Atti del convegno annuale del gruppo di lavoro delle regioni alpine per la profilassi delle mastiti
- 31 - 1991 Allevamento delle piccole specie
- 32 - 1992 Gestione e protezione del patrimonio faunistico
- 33 - 1992 Allevamento e malattie del visone
- 34 - 1993 Atti del XIX Meeting annuale della S.I.P.A.S., e del Convegno su Malattie dismetaboliche del suino
- 35 - 1993 Stato dell'arte delle ricerche italiane nel settore delle biotecnologie applicate alle scienze veterinarie e zootecniche - Atti 1a conferenza nazionale
- 36 - 1993 Argomenti di patologia veterinaria
- 37 - 1994 Stato dell'arte delle ricerche italiane sul settore delle biotecnologie applicate alle scienze veterinarie e zootecniche
- 38 - 1995 Atti del XIX corso in patologia suina e tecnica dell'allevamento
- 39 - 1995 Quale bioetica in campo animale? Le frontiere dell'ingegneria genetica

- 40 - 1996 Principi e metodi di tossicologia in vitro
- 41 - 1996 Diagnostica istologica dei tumori degli animali
- 42 - 1998 Umanesimo ed animalismo
- 43 - 1998 Atti del Convegno scientifico sulle enteropatie del coniglio
- 44 - 1998 Lezioni di citologia diagnostica veterinaria
- 45 - 2000 Metodi di analisi microbiologica degli alimenti
- 46 - 2000 Animali, terapia dell'anima
- 47 - 2001 Quarantacinquesimo della Fondazione Iniziative Zooprofilattiche e Zootecniche di Brescia, 1955- 2000
- 48 - 2001 Atti III Convegno Nazionale di Storia della Medicina Veterinaria
- 49 - 2001 Tipizzare le salmonelle
- 50 - 2002 Atti della giornata di studio in cardiologia veterinaria
- 51 - 2002 La valutazione del benessere nella specie bovina
- 52 - 2003 La ipofertilità della bovina da latte
- 53 - 2003 Il benessere dei suini e delle bovine da latte: punti critici e valutazione in allevamento
- 54 - 2003 Proceedings of the 37<sup>th</sup> international congress of the ISAE
- 55 - 2004 Riproduzione e benessere in conigliocultura: recenti acquisizioni scientifiche e trasferibilità in campo
- 56 - 2004 Guida alla diagnosi necroscopica in patologia suina
- 57 - 2004 Atti del XXVII corso in patologia suina e tecnica dell'allevamento
- 58 - 2005 Piccola storia della Medicina Veterinaria raccontata dai francobolli
- 59 - 2005 IV Congresso Italiano di Storia della Medicina Veterinaria
- 60 - 2005 Atti del XXVIII corso in patologia suina e tecnica dell'allevamento
- 61 - 2006 Atlante di patologia cardiovascolare degli animali da reddito
- 62 - 2006 50° Fondazione Iniziative Zooprofilattiche e Zootecniche di Brescia, 1955- 2005
- 63 - 2006 Guida alla diagnosi necroscopica in patologia del coniglio
- 64 - 2006 Atti del XXIX corso in patologia suina e tecnica dell'allevamento
- 65 - 2006 Proceedings of the 2<sup>nd</sup> International Equitation Science Symposium
- 66 - 2007 Piccola storia della Medicina Veterinaria raccontata dai francobolli - II edizione
- 67 - 2007 Il benessere degli animali da reddito: quale e come valutarlo
- 68 - 2007 Proceedings of the 6<sup>th</sup> International Veterinary Behaviour Meeting
- 69 - 2007 Atti del XXX corso in patologia suina
- 70 - 2007 Microbi e alimenti
- 71 - 2008 V Convegno Nazionale di Storia della Medicina Veterinaria
- 72 - 2008 Proceedings of the 9<sup>th</sup> world rabbit congress
- 73 - 2008 Atti Corso Introduttivo alla Medicina non Convenzionale Veterinaria
- 74 - 2009 La biosicurezza in veterinaria
- 75 - 2009 Atlante di patologia suina I
- 76 - 2009 Escherichia Coli
- 77 - 2010 Attività di mediazione con l'asino
- 78 - 2010 Allevamento animale e riflessi ambientali
- 79 - 2010 Atlante di patologia suina II PRIMA PARTE
- 80 - 2010 Atlante di patologia suina II SECONDA PARTE
- 81 - 2011 Esercitazioni di microbiologia
- 82 - 2011 Latte di asina



FONDAZIONE INIZIATIVE ZOOPROFILATTICHE E ZOOTECHNICHE  
- BRESCIA -

Direttore scientifico: Prof. E. LODETTI

**ANIMALI D'AFFEZIONE:  
nuove frontiere nella ricerca su problemi comportamentali,  
neurofisiologia e genetica**

a cura di Jacopo Riva, Corrado Carenzi, Marina Verga

EDITO A CURA DELLA  
FONDAZIONE INIZIATIVE ZOOPROFILATTICHE  
E ZOOTECHNICHE - BRESCIA  
Via Istria, 3/b - 25125 Brescia

ISBN 978-88-904416-7-7

© Fondazione Iniziative Zooprofilattiche e Zootecniche - Brescia, aprile 2011

---

Tipografia Camuna - Brescia 2011

## INDICE

S. CAPRETTI.....	IX
<i>Presentazione</i>	
C. CARENZI, M. VERGA.....	XI
<i>Prefazione</i>	
E SFORZINI, M. VERGA.....	1
<b>Patologie comportamentali nel cane e nel gatto: identificazione e possibile prevenzione</b>	
J. RIVA, C. CARENZI.....	15
<b>Studi sui neurotrasmettitori nel cane e nel gatto: implicazioni nello sviluppo dei problemi comportamentali</b>	
V. REDAELLI, M. VERGA, F. LUZI.....	33
<b>La termografia nelle ricerche su comportamento e fisiologia degli animali da affezione</b>	
K.L. OVERALL.....	43
<b>Aggiornamenti sulla genetica comportamentale canina</b>	
S.P. MARELLI, A.S., M.C. COZZI, M. POLLI, .....	61
<b>Selezione e attitudine</b>	
M. LONGERI, S. BOCCALETTI, M. POLLI.....	71
<b>Genetica, prevenzione e diagnosi molecolare delle principali malattie ereditarie del gatto</b>	
M. POLLI, S. BOCCALETTI, M. LONGERI.....	83
<b>Genetica, prevenzione e diagnosi molecolare delle principali malattie ereditarie del cane e del gatto</b>	



## PRESENTAZIONE

Negli ultimi anni si è assistito ad un notevole aumento delle ricerche su problemi particolarmente attuali nelle specie canina e felina, in relazione all'identificazione ed all'eziologia sia di problemi comportamentali che di patologie ereditarie. I nuovi approcci nella valutazione dei disturbi comportamentali, sia in campo genetico che neurotrasmettitoriale, hanno permesso di comprendere meglio il complesso meccanismo di regolazione del sistema nervoso centrale: i neurotrasmettitori svolgono un ruolo fondamentale nella modulazione ed espressione di alcuni comportamenti, come nel caso di serotonina e dopamina, che vengono messe in relazione a risposte di tipo impulsivo sia in caso di ansia che in caso di aggressività. Le risposte correlate allo stress sono essenzialmente normali risposte adattative che consentono all'animale di adattarsi alla varietà e al cambiamento del suo ambiente. Il tipo di stimolo che fa precipitare queste risposte dipende sia da fattori genetici che dalle caratteristiche individuali e dalle esperienze effettuate durante lo sviluppo, come pure dal successo o meno di precedenti risposte agli stressori. Di particolare interesse risultano anche gli studi genetici con un approccio biomolecolare derivante dal sequenziamento del genoma e le ricerche volte alla comprensione, a livello del DNA, dei principali disordini genetici, rappresentati da circa 450 malattie ereditarie presenti nelle differenti razze canine e feline allevate e dall'applicazione di tecniche nuove come la termografia volta alla comprensione della fisiologia dello stress tramite valutazione della temperatura senza alcuna interferenza sul soggetto nel rilevamento. La Fondazione Iniziative Zooprofilattiche e Zootecniche di Brescia, che ha sempre svolto un ruolo primario nella divulgazione di nuove conoscenze in ambito veterinario, ha inteso anche in questa occasione diffondere i risultati dello studio e dell'applicazione di nuove tecniche di ricerca, per l'avanzamento delle conoscenze stesse ed il miglioramento dell'interazione uomo-animale.

Il Segretario Generale  
*dr. Stefano Capretti*



## PREFAZIONE

Le ricerche nel settore degli animali d'affezione hanno tradizionalmente riguardato gli aspetti più strettamente veterinari, legati alle patologie organiche ed alle relative terapie. Più recenti sono gli studi sulle problematiche comportamentali, sulla loro eziologia e sulla possibilità della loro prevenzione e/o riduzione, come pure le ricerche sulle basi genetiche delle patologie organiche e comportamentali.

L'incremento di tali ricerche si è reso possibile a seguito della grande evoluzione che si sta verificando nelle tecnologie di indagine, sia nell'ambito delle relazioni tra comportamento e neurofisiologia, che in quello della genetica molecolare. Un altro campo innovativo può essere l'utilizzo della termografia sia per il rilevamento della reattività a stimoli che per l'evidenziazione di patologie.

Questi sviluppi hanno determinato, negli ultimi anni, l'evoluzione dei nostri interessi di ricerca dalle tradizionali indagini etologiche ai più avanzati e stimolanti studi sulle connessioni tra comportamento, neurofisiologia e genetica. A tale fine si stanno soprattutto orientando le ricerche da un lato sulle relazioni tra comportamento, neurotrasmettitori e variabili fisiologiche rilevabili termograficamente, dall'altro sulle relazioni tra basi genetiche individuali e patologie sia organiche che comportamentali.

L'avanzare delle conoscenze su tali tematiche negli animali da affezione acquisisce particolare rilievo anche in funzione dell'utilizzo di queste come modelli applicabili all'approfondimento di problemi analoghi nella specie umana.

Questo Quaderno, che è stato voluto dalla Fondazione Iniziative Zooprofilattiche e Zootecniche di Brescia, come sempre aperta a diffondere gli innovativi messaggi derivanti dalla scienza, presenta in sintesi le tematiche sopra citate come pure alcuni dei promettenti risultati acquisiti dalle ricerche di settore.

*Corrado Carenzi, Marina Verga*



# **PATOLOGIE COMPORTAMENTALI NEL CANE E NEL GATTO: IDENTIFICAZIONE E POSSIBILE PREVENZIONE**

E. SFORZINI<sup>1</sup>, M. VERGA<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Medico Veterinario - Libero Professionista - Specialista in Etologia e Benessere degli Animali da Affezione

<sup>2</sup> Vetogene – Spin Off – Università degli Studi di Milano

## **INTRODUZIONE**

Il comportamento comprende tutti i processi mediante i quali gli organismi animali rispondono a fattori interni e a stimoli provenienti dall'ambiente esterno.

L'organismo percepisce le variazioni delle condizioni interne ed esterne dando risposte che possono essere attuate nella forma sia di semplici riflessi, sia di elaborati moduli comportamentali caratterizzati da una sequenza articolata di movimenti interdipendenti.

Lo studio del comportamento animale è incentrato sull'analisi del suo valore adattivo, evidenziabile attraverso un'attenta osservazione dei moduli comportamentali e la raccolta dei dati che si riferiscono ai diversi aspetti e conseguenze del comportamento osservato. Infatti, lo studio etologico non può prescindere dalla descrizione, classificazione e misurazione del comportamento. Inoltre il comportamento può essere descritto in termini di struttura o di conseguenze: la struttura può riguardare ad esempio la descrizione della postura e del movimento dell'animale; le conseguenze si riferiscono agli effetti del comportamento sull'ambiente fisico e sociale o su se stesso.

Nella ricerca etologica ha importanza primaria lo studio della funzione e dell'evoluzione del comportamento, mentre un approccio più strettamente psicologico riguarda lo studio dello sviluppo del comportamento animale con particolare attenzione ai processi di apprendimento. I dati, in questo caso, sono ricavati da ricerche condotte principalmente in strutture sperimentali utilizzando apparati atti allo scopo di determinare le modificazioni del comportamento dell'animale in risposta a stimoli e 'rinforzi', cioè conseguenze contingenti al comportamento emesso, e la valutazione successiva del raggiungimento di un certo grado di abilità nel risolvere il problema proposto.

Ovviamente va ricordato che il comportamento deriva da una stretta interazione tra componenti genetiche ed ambiente, ed è quindi soggetto all'azione sia della selezione naturale che delle esperienze precedenti, quindi fundamentalmente dall'apprendimento.

Ciascuna specie animale possiede un etogramma, cioè un repertorio di singole espressioni comportamentali specie-specifiche, che si manifesta singolarmente o in sequenze nel contesto naturale. Il diverso grado di plasticità comportamentale che caratterizza le singole specie le predispone in modo diverso all'adattamento e alla colonizzazione di nuovi ambienti attraverso cambiamenti del proprio repertorio comportamentale (Mainardi, 1992).

Nel comportamento si riconoscono sequenze di azioni con un inizio, uno sviluppo e una fine, e queste vanno sempre considerate in relazione alla situazione in cui si verificano. Per studiare il comportamento di un animale è quindi necessario indagare non solo ciò che fa ma anche quando, come, dove e perché compaiono determinati moduli e/o sequenze comportamentali.

Nell'ambito della ricerca sulle patologie comportamentali, è opportuno tentare di definire la differenza tra un comportamento normale e uno patologico. Gli elementi da valutare sono in particolare: il contesto in cui il comportamento si verifica (il principale determinante per definire se un comportamento è normale o anormale) (Overall, 1997, 2001); il linguaggio, sia posturale sia vocale, con cui l'animale comunica; l'intera sequenza comportamentale nelle sue fasi (appetitiva, azione, pausa, periodo refrattario) che si rivela essenziale per identificare

un comportamento patologico; l'intensità con cui il comportamento si manifesta può essere tale da farlo identificare come patologico quando interferisce in modo determinante con le relazioni sociali; anche la frequenza è un elemento da valutare e un esempio può essere quello di un animale che continua a mandare ad un altro soggetto lo stesso segnale comunicativo, senza riuscire ad interpretarne correttamente la risposta.

La definizione di comportamento "normale" o "anormale", nell'ambito delle ricerche sul comportamento sia degli animali sia dell'uomo, coinvolge anche altri aspetti, quali la possibilità di differenziare o integrare il corpo e la mente in un modello psicologico-psichiatrico; il problema di classificare un comportamento come realmente 'anormale' o 'patologico' e di mettere in relazione le categorie dei comportamenti alle loro funzioni biologiche adattative e/o non adattative; l'analisi delle analogie tra la psicopatologia animale e umana, per trovare modelli comparati atti a meglio comprendere l'eziologia delle diverse patologie comportamentali.

Non è facile, peraltro, distinguere nettamente un comportamento "normale" da uno "anormale": "comportamenti alterati, azioni con finalità non adeguate, azioni senza finalità, apatia", possono essere definiti come una "sostanziale e continua deviazione dal comportamento normale" (Sambraus, 1998). Per comprendere la differenza fra un comportamento "normale" e "anormale" si può ricorrere essenzialmente agli aspetti accennati prima, cioè il contesto in cui si manifesta, la sua frequenza, la presenza nella popolazione e il suo significato biologico.

Il valore adattativo del comportamento e il suo significato funzionale nel processo evolutivo sono stati ampiamente studiati. Secondo Dehasse (2003) "il comportamento è uno stato o un cambiamento di stato di un individuo, oggettivamente identificabile e definibile, che è flessibile e che può adattarsi ai cambiamenti ambientali senza particolari difficoltà. Un comportamento patologico risulta solitamente per nulla flessibile, ostinato e rigido".

Trattando in particolare dei problemi comportamentali nel cane e nel gatto, talvolta i proprietari possono considerare 'anormali' comportamenti di fatto 'normali' che l'animale manifesta in momenti sbagliati o in modo eccessivo, oppure che sono semplicemente indesiderabili. Inoltre ciò che può essere vissuto come problema da un proprietario, non lo è necessariamente per un altro. Spesso problemi comportamentali, o comportamenti percepiti come tali, potrebbero essere controllati nella loro manifestazione, attenuati o eliminati attraverso una prevenzione adeguata.

I proprietari dovrebbero imparare a capire perché i loro animali si comportano in un determinato modo e saper reagire di conseguenza. Infatti, una conoscenza di base del comportamento sociale e delle modalità di comunicazione, possono essere utili per affrontare e prevenire eventuali patologie comportamentali, insieme a consigli pratici di scelta e di gestione dell'animale.

In generale, un ambiente poco stimolante, una scarsa attività, un eccessivo isolamento, porta al peggioramento della maggior parte dei comportamenti indesiderati, soprattutto negli animali giovani che sono molto attivi, curiosi e necessitano d'interazioni e di stimoli.

Se le esigenze comportamentali e sociali degli animali non sono soddisfatte, può aumentare la probabilità che trovino il modo per soddisfarli attraverso modalità non accettabili sia per il loro benessere sia per quello dei loro proprietari, determinando l'insorgere di problemi comportamentali che possono anche portare alla rottura del legame uomo animale (Horwitz et al., 2003, 2004).

I più comuni problemi comportamentali riferiti dai proprietari sono: l'aggressività, lo sporcare in casa, lo scavare, il saltare addosso, l'abbaiare, il giocare con i denti, il distruggere e il masticare. (Houpt, 1985). Anche se talvolta questi comportamenti possono essere considerati 'normali' perché rientrano nell'etogramma specie-specifico, per renderli accettabili spesso è necessario modificarne la frequenza, il contesto di manifestazione e l'intensità (Horwitz et al., 2004.)

Secondo quanto riportato da Beaver (1993 a,b) i problemi comportamentali più diffusi nei cani sono: l'aggressività, i disturbi eliminatori, la masticazione distruttiva, paure/fobie, iper-

reattività/eccitabilità, ansia da separazione, comportamenti di sottomissione eccessiva, vocalizzazioni eccessive, forme di alimentazione anormale.

Nei gatti invece, secondo uno studio condotto da trenta specialisti di comportamento animale per l'Animal Behavior Consultant Newsletter (1987) si evidenziavano con maggior frequenza eliminazione inappropriata e spruzzi di urina, aggressività, distruttività, problemi legati alla separazione dal proprietario (Overall, 2001).

Diventa quindi importante l'identificazione del problema comportamentale attraverso ipotesi diagnostiche ottenute grazie ad un'anamnesi approfondita e puntuale, che fornisca dati clinici e comportamentali tali da permettere al Medico Veterinario comportamentalista di prescrivere la terapia più mirata.

Il processo anamnestico prevede l'acquisizione di informazioni in merito al segnalamento dell'animale (età, sesso, condizione riproduttiva, razza, peso) all'ambiente, alla composizione della famiglia con la quale l'animale vive, in particolare l'eventuale presenza di bambini piccoli, di anziani o di altre persone che frequentano la casa e di altri animali.

È inoltre necessario ottenere informazioni precise sul comportamento dell'animale rivolgendo ai proprietari domande specifiche che si riferiscono al comportamento dello stesso in relazione a concomitanti sintomi fisici, al comportamento alimentare, al comportamento di abbeverata, al comportamento somato-sensoriale, al comportamento di eliminazione, a disturbi del sonno, a forme di aggressività, a comportamenti esplorativi e al comportamento sessuale-riproduttivo (Horwitz et al., 2004).

Occorre anche verificare sempre l'esistenza di una possibile causa fisica che abbia determinato o mantenuto il problema, perché numerose patologie organiche possono essere associate a manifestazioni cliniche comportamentali (Reisner, 1991). Le eventuali patologie concomitanti, come pure qualsiasi trattamento farmacologico, possono essere identificate anche attraverso l'esame delle cartelle cliniche e del libretto sanitario del paziente. È necessario quindi condurre una visita clinica (con l'ausilio di valori ematici, valutazioni specialistiche e altri esami ritenuti utili) per la necessità di effettuare diagnosi differenziali con altre patologie.

Occorre prendere informazioni che riguardano il comportamento generale dell'animale anche in riferimento alla sua provenienza, alle sue esperienze durante i primi mesi di vita, alla sua gestione da parte dei proprietari, alla routine giornaliera, alla sua storia sanitaria e alle caratteristiche e aspettative dei membri della famiglia.

La descrizione dei disturbi comportamentali, da parte dei proprietari, va approfondita, in modo tale che lo specialista possa capire a fondo quali problemi ci siano prima di potere formulare una diagnosi e dare risposte esaurienti per il trattamento del paziente.

Le domande focalizzate al problema da rivolgere al proprietario sono, in sintesi:

- Qual è il problema principale?
- Ci sono altri problemi?
- Quanto è serio il problema?
- Con quale frequenza capita?
- In quali circostanze capita?
- Descrivere dettagliatamente cosa è accaduto durante le ultime manifestazioni del problema:
  - Dove era l'animale?
  - Che cosa stava facendo prima di mostrare il problema comportamentale.
  - Che cosa fa esattamente l'animale durante e dopo aver manifestato il comportamento?
  - C'erano delle persone o altri animali presenti?
  - Come hanno reagito ai problemi comportamentali dell'animale?
  - Come ha risposto l'animale a queste reazioni?
  - L'animale è stato punito? In che modo? Come ha reagito?
  - Avete fatto qualche cosa in risposta ai problemi comportamentali dell'animale?
  - Cosa di specifico avete fatto in quel momento?

- Come e quando è apparso il problema la prima volta e come si è evoluto?
- Ha avuto altri problemi con l'animale in questo periodo o precedentemente?
- Quali sono i metodi che ha usato fino ad ora per tentare di controllare i problemi comportamentali?
- Quanto diligentemente e costantemente ha applicato questi metodi?
- Con che risultati?

(Modificato da Askew, 1996)

È inoltre necessario valutare precedenti diagnosi e trattamenti prescritti nell'affrontare il problema.

## PREVENZIONE

I problemi comportamentali degli animali da compagnia possono determinare spesso l'interruzione della loro interazione con l'uomo e talvolta anche l'abbandono dell'animale stesso. Peraltro da alcune ricerche risulta che dal 50 al 70% degli animali portati alle strutture di rifugio sono soppressi per problemi comportamentali (Overall, 2001) ed è quindi auspicabile riuscire a prevenirli. La prevenzione dei problemi comportamentali riguarda numerosi aspetti legati all'identificazione della loro eziologia, sia a livello di predisposizione genetica individuale e di razza che di determinanti ambientali-relazionali. In merito a queste ultime, essa riguarda l'adeguata informazione e istruzione del proprietario nell'accogliere, nell'educare e nel gestire l'animale appena introdotto in famiglia; come pure nel seguire criteri che lo guidino nella scelta del tipo di animale e nelle caratteristiche del singolo individuo da inserire in uno specifico nucleo familiare, e nella conoscenza di predisposizioni su base genetica di alcuni disturbi del comportamento.

I consigli che può fornire un Medico Veterinario in riferimento alla scelta di un animale sono molto importanti; la scelta deve essere fatta principalmente in base alle caratteristiche di razza e del singolo individuo, al sesso, all'età di acquisizione, allo stile di vita e alle aspettative del proprietario.

Consigli su alcune caratteristiche di razza possono aiutare i proprietari ad affrontare meglio alcuni comportamenti che non possono essere modificati, rendendo più realistiche le loro attese sull'animale, ad esempio, in genere una razza da lavoro ha bisogno di un'intensa attività fisica.

Durante il colloquio che precede l'adozione di un animale, occorre affrontare questi argomenti:

1. Ruolo previsto per l'animale da compagnia e motivo dell'acquisizione dell'animale.
2. Attese specifiche in merito a:
  - Taglia (piccola - media - grossa)
  - Livello di attività
  - Requisiti specifici
  - Aspetto fisico, esigenze nella pulizia
  - Cambiamenti nello sviluppo (dal cucciolo al cane anziano)
3. Costi in merito a:
  - Adozione presso canile o acquisto in allevamento
  - Sterilizzazione
  - Applicazione microchip
  - Vaccinazioni
  - Esame delle feci
  - Cibo
  - Costo delle cure sanitarie (preventive e terapeutiche)
4. Aspetti sanitari, programmi e stile di vita del cliente
  - Allergie
  - Capacità fisiche

- Tempo dedicato al lavoro e al tempo libero
  - Età del cliente da correlare all'età dell'animale
5. Considerazioni sulle razze
    - Esigenze di igiene e pulizia
    - Esercizio
    - Tendenze comportamentali
    - Malattie metaboliche o genetiche
  6. Principali caratteristiche riguardo all'età e al sesso
  7. Prospettiva di vita media
- (Overall, 2001)

Un'occasione importante per dare al proprietario alcuni consigli riguardanti l'educazione del proprio animale e la valutazione da parte del veterinario dei comportamenti del cucciolo e del gattino può essere la prima visita effettuata per le vaccinazioni. Le prime due visite vaccinali sono molto utili per la prevenzione dei disturbi comportamentali, perché di solito permettono di osservare il cucciolo in un momento cruciale del suo sviluppo comportamentale. Durante queste visite è necessario fornire al proprietario un numero sintetico d'informazioni facilmente comprensibili per educare nel modo migliore il proprio animale in funzione delle difficoltà comportamentali previste o osservate durante la visita. Fondamentale è spiegare al proprietario che il cucciolo deve socializzare grazie a contatti ripetuti con persone differenti e in situazioni diverse e incontrando varie tipologie di animali (Bailey, 2002). Se mostra reazioni di evitamento (paura) non bisogna rinforzarlo con carezze o abbracci, ma è bene rimanere indifferenti e dargli attenzione appena si calma. Se un oggetto lo impaurisce, è consigliabile accompagnare il cucciolo a esplorarlo attirandolo e motivandolo con il gioco. Ad esempio se il cane ha paura a uscire per strada si può accompagnarlo a cuccioli non timorosi. Il proprietario deve sempre stimolare, incoraggiare e rinforzare nel modo giusto i comportamenti desiderati del cucciolo aiutandolo nella sua crescita e in questo impegno può essere supportato anche da istruttori all'interno delle cosiddette "puppy class", come sarà specificato più avanti.

Per valutare i comportamenti acquisiti del cucciolo il Medico Veterinario può osservarlo in sala d'attesa e in sala visite: è impaurito e si nasconde, è incollato al proprietario, morde tutto, è molto esplorativo, rosicchia tutto, tollera la manipolazione o si dibatte furiosamente, accetta o meno di essere messo con calma in posizione di sottomissione, se gli è dato un gioco lo restituisce o lo trattiene con forza, se si chiama viene o si nasconde, come si comporta alla presenza di un altro cane.

La valutazione dei comportamenti del cucciolo fino alla 12<sup>ma</sup>-13<sup>ma</sup> settimana riguarda alcune acquisizioni comportamentali che sono il frutto di un adeguato sviluppo durante il primo periodo di vita. Il cucciolo acquisisce una serie di autocontrolli grazie alle interazioni con i fratelli-sorelle e con l'intervento della madre. L'esempio più esplicativo è quello dell'inibizione al morso: durante i combattimenti troppo irruenti dei cuccioli, la madre richiamata dai lamenti, può provvedere a inibire i morsi troppo incisivi. I deficit nell'acquisizione degli autocontrolli possono determinare un quadro clinico d'ipersensibilità-ipereattività, per cui i cuccioli non stanno mai fermi, dormono poco, hanno comportamenti distruttivi, possono essere bulimici.

Grazie a esposizioni sufficienti a vari stimoli esterni e a una corretta socializzazione il cucciolo può raggiungere un adeguato livello di omeostasi sensoriale. Il livello di stimolazione proposto al cucciolo ne condiziona pertanto l'adattabilità futura e la capacità d'inserimento in un nuovo ambiente. Dalla 3a settimana il cucciolo percepisce gli stimoli del mondo esterno ed è molto curioso; dalla 5a settimana compaiono la paura dell'ignoto e l'evitamento (tendono a fuggire davanti a qualcosa di sconosciuto). Durante questa fase, fino all'8a settimana l'ambiente deve essere ricco di stimoli uditivi, visivi, olfattivi, tattili. Allevare cuccioli in un

ambiente privo di stimoli li porta a essere timorosi di tutto ciò che non conoscono e potenzialmente a soffrire di una sindrome di privazione sensoriale.

Il periodo sensibile per la socializzazione primaria nel cane si colloca tra la 4a e la 10a-12a settimana di vita. Tale socializzazione s'instaura dapprima sui componenti della specie poi sull'uomo. Fondamentale è quindi anche la valutazione della socializzazione interspecifica, che riguarda la qualità delle interazioni con la specie umana. Nei confronti di una specie con cui non ha socializzato, il cane può reagire con la fuga o con comportamenti aggressivi. Per prevenire tali problemi il cucciolo deve entrare in contatto con uomini, donne, bambini, quindi con soggetti umani con caratteristiche fisiche diverse. Questo processo deve svolgersi in un ambiente tranquillo e rassicurante con quotidiani contatti, manipolazioni, parole, giochi da usare con regolarità, con la partecipazione di una o meglio più persone.

La socializzazione intraspecifica comprende anche l'acquisizione delle regole di comunicazione e di vita sociale (gerarchizzazione). Nel cane la comunicazione si basa su posture e comportamenti ritualizzati, che inizialmente possiedono una funzione legata al soddisfacimento di bisogni vitali e che in seguito assumono un significato nella comunicazione sociale.

Per uno sviluppo armonioso il cucciolo ha bisogno inoltre di un legame forte e unico con la madre. Questo legame sarà generalizzato al gruppo sociale che lo adotterà. Nel momento dello svezzamento la madre stimola il distacco attivo del cucciolo e quindi è più facile in questa fase trasferire il legame di attaccamento sulla persona o sui membri della nuova famiglia. Una volta introdotto nel nuovo nucleo sociale, è importante che i proprietari educino il nuovo arrivato in modo da fargli assumere una posizione gerarchica inferiore rispetto a quella di tutti i membri della famiglia.

Al fine di permettere un corretto inserimento nella famiglia occorre valutare le capacità di comunicazione con il cane da parte dei membri della famiglia, che devono sempre essere il più possibile chiari e coerenti. La comunicazione tra cane e uomo si basa soprattutto sulla lettura delle posture, dei gesti, della mimica facciale e sul linguaggio paraverbale.

E' fondamentale spiegare al proprietario come affrontare l'educazione del cucciolo e come interagire con lui fissando delle regole di comportamento.

Anche nel caso dei gattini, la prima visita offre l'occasione al Medico Veterinario di fare osservazioni che permettono la valutazione delle acquisizioni comportamentali del gattino e fornire consigli educativi al proprietario. I gattini sono portati alla visita a età variabili secondo le circostanze in cui è avvenuta l'adozione; occorre ricordare che nel gatto il periodo di socializzazione termina prima di quello del cucciolo, collocandosi tra le tre e le nove-dieci settimane (anche se può estendersi alle 14 settimane) di vita. Durante la prima visita il Medico Veterinario può valutare la reattività di un gattino alla manipolazione e il suo grado di socializzazione. Il test di reattività alla manipolazione prevede che il gattino sia sollevato afferrandolo per la cute della nuca. Il gattino normale è rilassato, disteso, si ripiega leggermente su se stesso e ha le palpebre socchiuse. Il gattino reattivo si divincola, ha le zampe tese, soffia, sfodera gli artigli. Il test di socializzazione si può realizzare accarezzando il gattino e osservandone le reazioni. Un gattino socievole accetterà volentieri le carezze cercando il contatto della mano, facendo le fusa, strusciandosi soprattutto con la testa in modo da deporre i propri feromoni di marcatura sulla persona che a questo punto da estranea diventa "familiare". Un gattino poco socievole al contatto cercherà di fuggire, di graffiare o si dibatterà violentemente.

Durante la prima visita il Medico Veterinario deve anche verificare, se il gattino, una volta lasciato libero in sala visite, correrà a nascondersi o giocherà ed esplorerà la stanza, se farà le fusa e se tenderà a strofinarsi contro gli oggetti per marcarli; se il gattino si mantiene pulito; se il gattino ha avuto un'educazione materna ed ha acquisito l'autocontrollo con riferimento ai comportamenti come morsi, graffi e attività motoria; se rispetta senza graffiare o mordersi la madre e i proprietari. Dovrà anche valutare le caratteristiche di percezione visiva, tattile, olfattiva e acustica del gattino e se esistono o no fobie ai rumori; se il gattino si fa manipolare

tranquillamente. In caso di deficit di socializzazione da mancanza di manipolazione potrebbe aumentare il rischio di aggressione da paura o da irritazione (Dehasse, 1999).

Bisogna in questo caso spiegare al proprietario come riconoscere le posture che indicano l'inizio di un'aggressione (Beaver, 1992; Bradshaw, 1992). La postura offensiva si manifesta con arti tesi, piloerezione, treno posteriore sollevato, coda rigida, arruffata, con brevi movimenti, padiglioni auricolari portati all'indietro con rapidi movimenti, testa che tende ad abbassarsi, bocca chiusa e pupille leggermente dilatate (Overall 1997). Nella postura difensiva il corpo è ripiegato su se stesso, la coda tocca il suolo, il collo è incassato, i padiglioni auricolari sono totalmente ruotati e appiattiti sulla testa, le pupille sono dilatate.

Il Medico Veterinario può ulteriormente verificare se il gattino è affetto da sindrome da privazione sensoriale nel caso presenti reazioni quali scarsa socievolezza, soffi, rifugge il contatto umano, abbia intolleranza ai rumori e ai movimenti bruschi; può avere reazioni violente, all'uscita dal trasportino, tali da arrivare a tentare di arrampicarsi sui muri e sui vetri. Il gattino con sindrome da iperattività morde e graffia senza controllo le braccia e le mani dei proprietari ed ha una tendenza estrema ad arrampicarsi, giocare e a muoversi, dorme poco e presenta momenti di eccitazione serale.

Per spiegare al proprietario come perfezionare l'educazione materna e come prevenire e correggere alcuni comportamenti indesiderati del gattino è opportuno fornirgli semplici consigli riguardo alla scelta iniziale del gattino, alla sua educazione, a come comunicare correttamente con lui, alla sua gestione e alle sue esigenze. Per esempio, riguardo al controllo di giochi violenti o di aggressioni nei confronti delle persone (salire sulle gambe e sulla schiena), il proprietario potrà scoraggiare i tentativi del gattino con un "NO" deciso e poi ridirigere l'attività del gattino verso un gioco lanciato lontano (Dehasse, 1993).

Se il gattino tenterà di mordere o di graffiare si possono ridurre tali comportamenti dando dei colpetti con le dita sul muso o in direzione del ventre (Dehasse, 1993). Se il gattino gioca troppo violentemente o se è molto giovane (meno di tre mesi) bisogna fermarlo con calma, sollevarlo dolcemente afferrandolo per la cute del collo e così immobilizzarlo (riflesso d'immobilizzazione evocato dalla madre quando lo trasporta). Se il gattino cerca di succhiare, ciò può indicare uno svezzamento troppo precoce, che induce lo stabilirsi di un legame di sostituzione materna e che si può trasformare in un legame d'iperattaccamento nei confronti del proprietario. Il proprietario può fare cessare tale comportamento dai 3-4 mesi di età dell'animale interrompendo il contatto con lui ogni volta che si manifesta il comportamento indesiderabile. La sospensione dell'interazione può essere applicata ogni volta che si vuole interrompere un comportamento inappropriato e/o fastidioso.

La comprensione delle caratteristiche sensoriali degli animali e dei principi con cui essi apprendono è fondamentale non solo nel processo di educazione ma anche quando si presenta la necessità di modificare il loro comportamento.

I principi di base che bisogna conoscere per educare ed eventualmente poi addestrare un animale sono soprattutto riferibili ai principi dell'apprendimento associativo, ricordando che sono importanti sia i sistemi con cui comunichiamo con il cucciolo (per esempio il tono della voce), sia l'uso dei "rinforzi". Ci si riferisce in particolare al condizionamento operante che insegna all'animale a compiere una risposta volontaria per ottenere un rinforzo o una ricompensa. In questo caso il comportamento è controllato dalle sue conseguenze, per cui, nel momento in cui esiste una motivazione ad agire, se le conseguenze del comportamento sono positive è più probabile che il comportamento successivamente tenda a manifestarsi nuovamente. I proprietari devono essere istruiti adeguatamente, eventualmente anche attraverso un buon rapporto di lavoro con un educatore per una corretta applicazione della teoria del condizionamento. I principi dell'apprendimento associativo, in particolare il condizionamento classico come il condizionamento operante sono in genere i metodi più utilizzati per l'educazione e l'addestramento dei cani e dei gatti.

In merito ai rinforzi che si possono utilizzare, il cibo è spesso utilizzato come rinforzo primario. Si può usare nelle prime fasi di addestramento come richiamo-ricompensa per insegnare un nuovo comportamento. Dopo che il comportamento è stato appreso, il cibo dovrà essere impiegato in modo intermittente per consolidare il comportamento. Il cibo, come qualsiasi altro rinforzo, deve essere utilizzato correttamente; l'animale apprende che deve 'lavorare' per meritarsi la ricompensa. Se il comportamento non è manifestato il proprietario, se ne andrà e non darà ricompensa; l'animale imparerà così ad ascoltare di più e che non otterrà niente per niente (Horwitz et al., 2004).

Per quanto riguarda i sistemi di comunicazione che si possono utilizzare con gli animali da compagnia, è importante, in particolare per la comunicazione acustica, anche il tono della voce: infatti, cani e gatti, privilegiando principalmente la comunicazione paraverbale, si basano sul linguaggio del corpo e sul tono della voce per interpretare i segnali comunicativi. Un tono quieto e tranquillo, anche se deciso, comunicherà sicurezza e calma. Se il proprietario utilizza un tono di voce duro e aspro probabilmente il cane reagirà con una postura che vorrebbe evocare una pacificazione; spesso in questi casi le reazioni del cane sono interpretate in maniera errata dal proprietario che non conosce i segnali di comunicazione canina.

#### “PUPPY CLASS” E “KITTEN CLASS”

Nell'ambito della prevenzione è importante che gli animali imparino a manifestare comportamenti socialmente accettabili. Le “puppy class” e le “kitten class” possono essere molto utili per insegnare ai proprietari come capire i loro animali e come insegnare loro a manifestare tali comportamenti. Alcuni studi hanno dimostrato che manipolazioni gentili sui gattini, tali da non spaventarli, sono importanti per il loro normale sviluppo (Karsch e Turner, 1988).

Le classi di educazione devono essere organizzate attentamente, ricordando che nei cani è indicato come periodo di socializzazione quello compreso tra le tre settimane di vita e i tre mesi (può estendersi a 16 settimane). Nei gatti questo periodo sensibile si ritiene termini attorno alle 12-14 settimane di vita; di conseguenza l'età di accesso per i gattini non deve superare le tredici settimane.

Le classi devono essere condotte da istruttori esperti di comportamento animale e delle tecniche di apprendimento. Prima di iniziare una “puppy class” bisogna considerare gli obiettivi da porsi, stabilire i metodi di addestramento da utilizzare e finalizzare il tutto a dei risultati da raggiungere. Gli scopi da perseguire nell'organizzazione di una classe di educazione sono principalmente:

- Educare i proprietari a un possesso responsabile dell'animale.
- Informare i proprietari sul comportamento normale dell'animale.
- Istruire i proprietari sui metodi di addestramento corretti che li rendano in grado di educare i loro animali a casa.
- Permettere ai cuccioli e gattini di socializzare in situazioni sicure e controllate.
- Insegnare ai cuccioli e ai gattini ad accettare di essere toccati gentilmente da parte delle persone.
- Illustrare alcuni comandi di obbedienza di base.
- Risolvere eventuali situazioni-problema come sporcare in casa, morsicare, saltare, masticare e graffiare
- Rendere più gradevoli le visite veterinarie.

(Modificato da Horwitz et al., 2004)

Le puppy class sono adatte a cuccioli tra le sette e sedici settimane di età (dipende dalla razza e dal grado di sviluppo) e servono agli animali per diventare soggetti adulti socievoli e trattabili. Gli scopi delle puppy class sono quindi soprattutto: prevenire problemi comportamentali;

favorire un forte legame fra cucciolo e proprietario, informandolo sui diversi aspetti della crescita di un cucciolo e su come gestire un cane in famiglia; favorire la socializzazione con altri cani, le persone e con stimoli o ambienti diversi; favorire l'apprendimento dei comandi di obbedienza di base, come ad esempio sedersi, restare fermo, mettersi a terra e ritornare a comando.

Una puppy class dura circa cinque settimane, con una prima classe nella quale i cuccioli sono liberi di muoversi per consentire ai proprietari di concentrarsi e porre le domande che a loro interessano.

Normalmente ogni classe è composta di sei cuccioli seguiti da almeno due educatori. L'addestramento del cucciolo è fatto in assenza di guinzaglio e l'educazione è basata sulla motivazione e sul premio.

S'insegnano ai proprietari i sistemi di apprendimento del cane e come l'animale percepisce l'ambiente circostante. Accenni sono fatti anche a come nutrirli e come gestirli in casa e all'aperto (es. camminare al guinzaglio senza tirare), come pure agli aspetti igienico sanitari.

Le indicazioni vanno anche modulate in funzione delle caratteristiche del cucciolo, perché vi sono soggetti che possono dimostrarsi "timidi", "spaventati" o al contrario "prepotenti", per i quali è necessario intervenire e provvedere a una gestione adeguata.

Le kitten class svolgono programmi di educazione per un periodo di circa 2 settimane, con classi in media di 6 gattini con due educatori. Gli scopi delle kitten class sono sovrapponibili a quelle delle puppy class e sono utili ad aiutare i gattini sotto le 14 settimane a diventare soggetti adulti socievoli.

Le classi si tengono per gattini tra le 7 e le 13 settimane di vita, e consentono loro, sfruttando la loro naturale curiosità, di esplorare, di giocare con altri conspecifici, di utilizzare giocattoli e di sviluppare fiducia verso situazioni nuove.

I gattini possono imparare ad avvicinarsi, quando chiamati, attraverso l'utilizzo di elogi e di cibo impiegati durante l'apprendimento di questi esercizi. Ai proprietari si insegna come manipolare il gattino e come accudirlo; sono inoltre fornite informazioni su come insegnargli a usare la cassetta igienica, sull'utilizzo del graffiatoio, su come gestirlo in casa e in generale sugli aspetti igienico-sanitari.

## ALTRI ASPETTI EDUCATIVI

Per prevenire comportamenti indesiderati è importante educare al confinamento sia cuccioli sia gattini; il confinamento può essere utile quando l'animale non è addestrato a eliminare in area appropriata o per mantenerlo occupato con giochi impedendogli di assumere comportamenti distruttivi.

Fondamentale è l'educazione all'igiene domestica, che consiste nel rinforzare il comportamento di eliminazione in un luogo appropriato e può durare da poche settimane a diversi mesi anche in funzione della costanza dei proprietari e delle capacità di apprendimento del cucciolo.

I punti da seguire in questo programma educativo sono: 1) insegnare al cucciolo grazie ad un rinforzo quali sono i luoghi in cui è consentita l'eliminazione; 2) fornire il cibo a orari regolari e controllabili dal proprietario; 3) prevenire l'eliminazione in luoghi indesiderati attraverso una sorveglianza stretta del cucciolo o confinandolo quando non può essere controllato, fino a quando non ha fissato il comportamento di eliminazione in area appropriata. Se l'animale tende a sporcare in un punto preciso della casa, bisogna lavare la superficie (senza farsi vedere dal cucciolo) con detergenti che rimuovano l'odore e in alcuni casi impedendo l'accesso alla zona. Non è opportuno usare la punizione, perché spesso è applicata in modo inappropriato e non insegna nulla al cucciolo. Bisogna eventualmente interrompere il cucciolo quando è sorpreso a eliminare in zona indesiderata con un rumore improvviso (che non

dovrebbe essere associato al proprietario), in modo da distrarlo senza spaventarlo; in seguito il cucciolo deve essere portato nell'area prescelta ed elogiato per avere utilizzato quella zona.

Per quanto riguarda i gatti, è importante l'educazione all'utilizzo della cassetta procurando una cassetta con sponde basse, che consenta al gattino di entrare e uscire agevolmente. La cassetta deve essere posta in una zona tranquilla e facilmente accessibile. La scelta del substrato deve essere rivolta a sabbia non profumata, segatura o carta riciclata. La cassetta deve essere svuotata giornalmente e lavata una volta la settimana evitando disinfettanti molto profumati. Quando il gattino è abituato alla cassetta, al substrato e alla sua posizione, è bene evitare di fare cambiamenti bruschi in riferimento a questi elementi.

Bisogna evitare che il gattino si spaventi o sia disturbato quando si trova all'interno o nelle vicinanze della cassetta. Tutte le volte che il gattino è libero di muoversi per casa, all'inizio dovrebbe essere vigilato e confinato in una piccola stanza con la sua cassetta (per le prime due settimane dall'introduzione in casa) quando non può essere controllato direttamente.

Osservare il gattino vuol dire riuscire ad anticipare l'eliminazione inappropriata: quando inizia ad annusare il pavimento, dovrebbe essere sollevato delicatamente, portato alla cassetta ed elogiato se la utilizza.

Per scoraggiare il gattino a eliminare in luogo inappropriato occorre pulire la zona con un prodotto che elimini l'odore, mettere la ciotola del cibo e dell'acqua su quella zona oppure un foglio di plastica scricchiolante, profumi, nastro biadesivo, ecc. Il gattino non dovrebbe essere mai punito perché si rischia di instaurare una reazione di paura nei confronti del proprietario.

I gattini, crescendo, possono iniziare a spruzzare sui muri e sugli arredi. La sterilizzazione eseguita prima della maturità sessuale può essere una soluzione. Uno dei motivi che può stimolare il gatto di casa a spruzzare urina può essere la presenza di gatti randagi all'esterno, quindi il proprietario dovrebbe attivarsi per evitare tutte quelle situazioni che potrebbero attirarli.

Per quanto riguarda il controllo della masticazione nel cucciolo, premesso che è molto importante fornirgli stimoli per impegnare le sue energie e il suo tempo, è noto che tutti i cuccioli hanno una grande propensione a mordere tutto ciò che trovano. Invece di cercare di eliminare completamente questo comportamento si può risolvere il problema insegnando al cucciolo a masticare oggetti idonei, tenendolo in un ambiente sicuro, fornendogli molti giocattoli attraenti da mordere.

Bisogna rinforzare l'abitudine a mordere oggetti appropriati lasciandogli a disposizione un certo numero di giocattoli sicuri e robusti; osservando le preferenze del cucciolo si sceglieranno quelli che preferisce. È possibile rendere i giocattoli più attraenti per il cucciolo cospargendo la superficie dei giochi con piccole quantità di alimenti a lui graditi oppure utilizzando dei giochi che possono essere riempiti con bocconcini per attirare e sostenere l'attenzione ed evitare che s'instauri un'abitudine e quindi disinteresse verso di loro.

Sarebbe opportuno anche che il proprietario attuasse una "rotazione periodica" dei giochi scelti mantenendo vivo l'interesse dell'animale. I comportamenti di masticazione idonei dovrebbero essere ricompensati il più spesso possibile con elogi o cibo.

E' anche opportuno consigliare al proprietario di non lasciare a disposizione dell'animale ciabatte, scarpe, asciugamani, teli e altri oggetti che possano essere simili a quelli che non devono essere morsi; eventualmente può mettere un campanello al collare dell'animale per capire quali sono i suoi spostamenti in casa e se si dirige verso una zona della casa dove possa mordere qualche oggetto indesiderato. È anche possibile insegnare al cucciolo a evitare alcuni oggetti rendendoli di sapore sgradevole utilizzando, per esempio, sostanze sgradite.

L'animale non deve essere punito quando è sorpreso a masticare un oggetto del proprietario, perché la punizione può portare il cucciolo a evitare il padrone piuttosto che scoraggiare il comportamento indesiderato. Il comportamento di masticazione può essere interrotto anche con un rumore acuto, che ovviamente non sia traumatico, e l'oggetto del proprietario va sostituito con un giocattolo da mordere.

Per quanto riguarda il controllo del graffio e del morso del gattino, può essere necessario impedirgli di utilizzare alcune aree della casa o alcuni oggetti. Si possono semplicemente chiudere le porte oppure applicare barriere o cancelletti per bambini. Per le aree che non si possono isolare, sono efficaci alcune sostanze con odore o sapore sgradito al gattino. Nel caso di gattini che tendono a mordere le piante, si può ridirigere il loro comportamento mettendo loro a disposizione per esempio un vaso di erba gatta. Non vanno applicate punizioni dirette ma remote, perché la punizione diretta può creare timore ed evitamento nei confronti del proprietario.

Per controllare il "farsi le unghie" su superfici inadeguate, è buona norma fornire al gattino un graffiatoio che deve essere collocato vicino alla sua area di riposo preferita oppure nei pressi dei luoghi più frequentati dal proprietario e provvedere a un taglio regolare delle unghie. Il rivestimento del graffiatoio dovrebbe essere di materiali che attraggono il gattino (legno, tessuto con fibre grossolane, ecc.). Ogni volta che il gattino usa il graffiatoio, deve essere lodato e ricompensato con un bocconcino, e, per insegnargli a usarlo, può essere portato più volte verso il graffiatoio insegnandogli a graffiare oppure attirandolo appendendovi alcuni giochi. Se persiste il graffiare superfici non idonee può essere utile ricoprirle con teli di plastica o nastro bi-adesivo.

È importante fornire al gattino un ambiente adatto alle sue necessità di gioco. I gatti sono attratti dagli spazi in verticale, quindi da giochi su cui possano arrampicarsi e stare in equilibrio; amano anche infilarsi in scatole di cartone vuote o fare balzi giocando con palline da ping pong o noci. Possono per loro essere molto attraenti anche i giochi che contengono crotchette o palline di cibo. I giochi da scegliere ovviamente non devono essere mai così piccoli da poter essere inghiottiti.

È anche necessario ricordare al proprietario che, quando gioca, col proprio gatto non dovrebbe utilizzare mai le mani o i piedi.

In merito ai problemi di aggressività, bisogna sempre cercare di prevenirla l'insorgenza, se possibile. Il fare sperimentare precocemente all'animale esperienze sociali positive, manipolarlo gentilmente e manifestare la propria autorità in modo fermo senza essere punitivi, costituiscono elementi importanti a tale fine.

Come si è prima accennato, ai fini dello sviluppo sociale i primi mesi di vita di un animale sono molto importanti. Cuccioli e gattini devono avere la possibilità di socializzare in età giovanile con varie tipologie di persone in modo da favorire lo sviluppo di un soggetto adulto equilibrato, senza comportamenti di evitamento, di paura o di aggressività. Nel periodo di socializzazione è necessario che il cucciolo venga in contatto con il maggior numero possibile di persone di varia età con caratteristiche diverse e di entrambi i sessi in varie circostanze e situazioni, ma sempre in modo tranquillo e non traumatico. Il proprietario dovrebbe iniziare, appena il cucciolo arriva in casa, a fargli fare incontri semplici e gradevoli con poche persone; gradatamente l'animale acquista fiducia e quindi lo si può esporre a situazioni più movimentate e a persone nuove. Quando il cucciolo uscirà in passeggiata dopo che ha imparato il comando "seduto", bisogna chiedergli di sedersi quando incontra una nuova persona e invitare questa a dargli un premio, ad esempio un bocconcino: in questo modo s'insegna al cucciolo a non aver paura delle mani che si avvicinano e a sedersi piuttosto di saltare sulle persone. Per facilitare la socializzazione intraspecifica è utile partecipare alle classi di educazione per cuccioli e gattini e favorire l'incontro con altri animali, sempre in circostanze inizialmente controllate e comunque tranquille. Partecipare alle classi di educazione durante i periodi previsti può essere utile anche ai proprietari per imparare ad acquisire un buon controllo verbale sui loro animali e quindi a prevenire episodi di aggressività in caso di minaccia o di competizione.

Nelle prime fasi di vita è necessario esporre i cuccioli e gattini a stimoli adeguati e diversi in modo da non scatenare in età adulta comportamenti legati alla paura, quali spesso sono

i comportamenti aggressivi, quando dovessero trovarsi di fronte a situazioni nuove. Oltre ad imparare a conoscere odori, suoni, rumori, immagini diverse, l'animale deve imparare a essere manipolato in modo che possa poi gradire le carezze, la visita del Veterinario, la toelettatura e le cure igieniche. Queste manualità devono essere fatte quando gli animali sono tranquilli, lentamente, senza forzature e se possibile quotidianamente a orari stabiliti. Se rimangono calmi durante le manipolazioni, essi devono essere ricompensati con elogi e cibo, mentre non devono essere ricompensati se mostrano segni di aggressività da paura; se manifestano paura intensa nei confronti di uno stimolo nuovo, è meglio sospendere l'esposizione e riprendere poi in una situazione tranquilla. Nel momento in cui l'animale accetta gli stimoli cui è sottoposto, potrà essere esposto a situazioni e stimoli sempre più intensi e complessi.

Appena il cucciolo arriva in casa, tutti i membri della famiglia devono confermare la loro posizione sociale utilizzando in modo corretto i comandi di obbedienza e attraverso il controllo delle risorse. Il cucciolo deve apprendere il comando "seduto" e dovrebbe eseguire questo esercizio prima di ricevere qualsiasi cosa. Potrà alzarsi quando sarà il proprietario a dargli il comando. La coerenza da parte di tutti, nelle interazioni col cucciolo, è fondamentale, ignorando tutti i comportamenti di richiesta di attenzione come mugolare, saltare addosso o dar colpi con la testa, e premiando tutti i comportamenti di calma e tranquillità. L'obiettivo non è quello di ridurre le attenzioni riservate al cucciolo, ma di controllare come e quando queste sono fornite (Villars, 2005).

Per prevenire l'aggressività legata al cibo, è utile insegnare al cane a consumare il suo pasto in un momento tranquillo anche alla presenza di altre persone. Eventuali ospiti presenti al momento del pasto possono far cadere nella ciotola, passando bocconcini molto graditi. Il pasto deve essere un momento di socialità tra l'animale e i membri della famiglia. Il proprietario di tanto in tanto può sedersi vicino al cucciolo e tenendo la ciotola in grembo nutrire il cucciolo accarezzandolo delicatamente. E' bene ricordare al proprietario di confermare la sua priorità gerarchica chiedendo al cucciolo di stare seduto prima di ricevere la ciotola con il cibo.

Anche se il mordere è un comportamento comune e normale se manifestato da cuccioli e gattini durante il gioco, la sua intensità e frequenza possono essere eccessive e rappresentare un problema per la famiglia. Nessuno dovrebbe giocare utilizzando mani e piedi e comunque ingaggiare giochi violenti o competitivi. Durante il gioco possono essere ammessi morsi accennati ma, nel momento in cui diventano troppo forti e spiacevoli, si deve smettere di giocare; se continua a mordere bisogna interrompere il comportamento con un "basta" più deciso in modo da allontanare l'animale senza spaventarlo; in altri casi è utile interrompere il morso troppo incisivo con un'esclamazione decisa, smettere immediatamente di giocare e allontanarsi dall'animale ignorandolo. In generale sarebbe utile far fare ai nostri animali esercizio fisico (passeggiate e gioco) per soddisfare il loro bisogno di muoversi.

Evitare le punizioni è molto importante, soprattutto durante i primi mesi di vita dei cuccioli e dei gattini, perché si potrebbe incrementare la loro ansia e da adulti potrebbero manifestare aggressività da paura. Il metodo più efficace per ottenere da un cucciolo o un gattino ciò che desideriamo è il rinforzo positivo per il comportamento appropriato (Villars, 2005).

Come già ricordato i disturbi comportamentali possono avere un'eziologia varia ed essere riconducibili a concause sia di tipo genetico, inteso come predisposizione individuale, sia di tipo ambientale. In merito a queste ultime, si può affermare che in generale cuccioli e gattini cresciuti e educati da proprietari informati sulle loro esigenze e sulle loro caratteristiche comportamentali manifesteranno più facilmente comportamenti sociali corretti e svilupperanno più raramente problemi comportamentali, il che consentirà di porre le basi per una lunga affettuosa e serena convivenza con l'animale (Horwitz et al., 2004).

## BIBLIOGRAFIA CITATA E CONSULTATA

- 1) Animal Behaviour Consultant Newsletter (1987). [www.animalbehavior.com](http://www.animalbehavior.com).
- 2) Askew H.R. (1996). Treatment of behaviour problems in dogs and cats. A guide for the small animal veterinarian. Blackwell Science.
- 3) Bailey G. (1998). Good Dog Behaviour, Harper Collins, London.
- 4) Bailey G. (2002). Que veut dire mon chien? Edition Grund Paris. 96pp.
- 5) Beaver B.V. (1992). Feline Behaviour: A Guide for Veterinarians. Ed. Saunders, seconde edition. Philadelphia, 1992: 276 pag.
- 6) Beaver B.V. (1993a). Owner complaints about canine behavior. JAVMA, 204:1953-1955.
- 7) Beaver B.V. (1993b). Profiles of dogs presented for aggression. JAAHA, 29:564-569.
- 8) Bradshaw J. (1992) The behavior of the domestic cat. Ed. CAB International UK, 219 pag.
- 9) Dehasse J. (1993). L'éducation du chat. Ed. L'Homme, Paris. 1993: 141 pag.
- 10) Dehasse J. (1999). Evaluation emotionnelle du chat en consultation. Nov. 1999. (<http://www.joeldehasse.com>.)
- 11) Dehasse J. (2003). L'educazione del gatto. Ed. Alberto Perdisa, Bologna.
- 12) Eysenck H.J. (1973). Handbook of abnormal psychology. Ed. R.R. Knapp, San Diego, 2nd Edition, 906pp.
- 13) Fisher J. (Ed.) (1993). The Behaviour of Dogs and Cats, Random House, London.
- 14) Fox M.W. (1978). Its Domestication and Behavior. Garland, STPM Press, New York.
- 15) Houpt K.A. (1985). Companion animal behaviour: a review of dog and cat behavior in the field, the laboratory and the clinic. Cornell Vet. 75:248-261.
- 16) Horwitz H, Heath S, Mills D.(2003). BSAVA Manual of Canine and Feline Behavioral Medicine. 2003, British Small Animal Veterinary Association, Gloucester, UK.
- 17) Horwitz H, Heath S, Mills D (2004). Terapia comportamentale del cane e del gatto. Edizione italiana a cura di AISEAB. Ed. UTET.
- 18) Karsh E.D., Turner D.C. (1988). The human-cat relationship. In: The Domestic Cat: The Biology of its Behavior. 1st edition. Ed. Turner DC, Bateson P. Cambridge University Press, Cambridge :159-177.
- 19) Mainardi D. (1992). Piccolo dizionario di etologia. Einaudi Editore.
- 20) Overall, K. (1997). Clinical Behavioral Medicine for Small Animals. Mosby, St. Louis.
- 21) Overall K. (2001). La clinica comportamentale del cane e del gatto. Edizioni Medico Scientifiche.
- 22) Overall K., Dunham A.E., Frank D. (2001). Frequency of nonspecific clinical signs in dogs with separation anxiety, thunderstorm phobia, and noise phobia, alone or in combination. JAVMA, Vol 219, No. 4. 467-473.
- 23) Overall K., Love M. (2001). Dog bites to humans-demography, epidemiology, injury, and risk. JAVMA, ol. 218, No. 12, 1923-1934.
- 24) Overall K., Duhnham A.E. (2002). Clinical features and outcome in dogs and cats with obsessive-compulsive disorder: 126 cases (1989-2000). JAVMA, Vol 221, No. 10, 1445-1452.
- 25) Pageat P. (1998). Patologie du comportement du chien. Edition Point Vet. Seconde edition. Maison-Alfort: 11-37.
- 26) Pageat P (1999). L'homme et le chien. Odile Jacob, Paris. 384pp.
- 27) Reisner, I.R. (1991). The pathophysiological basis of behavior problems. *Vet. Clin. North Am. (Small Anim. Pract.)* 21:207-224.
- 28) Sambras H.H. (1998). Applied ethology. Its task and limits in veterinary practice. *Appl. Anim. Beh. Sci.*, 59, 39-48.
- 29) Seksel K. (1997). Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice: 27(3), 465-477.

- 30) Serpell J. (1991). Beneficial effects of pet ownership on some aspects of human health and behavior. *J. of the Royal Soc. Of Med.*: 84(12), 717-720.
- 31) Villars A.M. (2005). Consigli educativi alla prima visita di un cucciolo. *Terapia comportamentale nel cane e nel gatto. Collana di Summa, Point Veterinaire Italie.*
- 32) Villars A.M. (2005). Consigli educativi al momento della prima visita di un gattino. *Terapia comportamentale nel cane e nel gatto. Collana di Summa, Point Veterinaire Italie.*

# STUDI SUI NEUROTRASMETTITORI NEL CANE E NEL GATTO: IMPLICAZIONI NELLO SVILUPPO DEI PROBLEMI COMPORTAMENTALI

J. RIVA<sup>1</sup>, C. CARENZI<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Medico Veterinario, Phd (behaviour) Specialista in Etologia applicata e benessere animale.  
Dipartimento di Scienze Animali – Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Milano

<sup>2</sup> Già Professore Ordinario – Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Milano

## INTRODUZIONE

Ogni giorno i ricercatori scoprono nuove informazioni sul cervello umano e animale, di conseguenza la loro comprensione su come veramente funziona è anch'essa in mutamento. La ricerca sul cervello è divenuta altamente specializzata ed aree che un tempo erano studiate complessivamente ora sono diventati campi di studio completamente separati e altamente specifici. I recenti sviluppi nella strumentazione scientifica hanno letteralmente “aperto le porte” per immergersi sempre più in profondità in piccoli mondi dentro ad altri mondi.

Alcuni decenni fa i ricercatori avevano notato che alcuni pazienti trattati con farmaci specifici (come la reserpina, uno dei primi farmaci per ridurre la pressione sanguigna), andavano incontro a depressione, viceversa, in altri soggetti trattati con un farmaco totalmente differente (l'iproniazide, un principio attivo utilizzato come antitubercolare) l'umore spesso migliorava. Analizzando gli effetti che questi farmaci avevano sulle cellule nervose scoprirono che la reserpina causava una perdita di noradrenalina, mentre l'iproniazide inibiva gli enzimi che degradano la noradrenalina e la serotonina (chiamati monoamino-ossidasi), aumentando la quantità di questi neurotrasmettitori liberata a livello delle sinapsi del sistema nervoso centrale (Stahl, 1999).

Ipotizzarono quindi che nella depressione e in altre forme patologiche di tipo psicologico, le molecole di serotonina e noradrenalina fossero troppo poche o insufficienti nel trasportare il segnale attraverso le sinapsi e che, al contrario, un eccesso di questi neurotrasmettitori fosse alla base della mania umana, caratterizzata da periodi di euforia, esaltazione e iperattività (Cooper, 1996).

Fu ben presto chiaro che si trattava di una teoria troppo semplicistica; non tutti i farmaci antidepressivi aumentavano le concentrazioni sinaptiche di tali neurotrasmettitori, mentre alcune sostanze che avevano tale peculiarità, non avevano effetti antidepressivi. Oltre a ciò la teoria non spiegava perché, mentre l'azione dei farmaci sulle sinapsi era pressoché immediata, per ottenere un effetto sulla sintomatologia occorrevo alcune settimane. Forse non si trattava solo della concentrazione di neurotrasmettitori, ma della loro capacità di agire sui recettori nella sinapsi o di essere da questi catturati. La “chiave” quindi poteva essere proprio nei recettori, che avrebbero potuto avere una sensibilità maggiore o minore alla stimolazione da parte del neurotrasmettitore, per esempio a causa della loro diversa posizione, nel contesto della membrana cellulare (più o meno nascosti) e del loro numero (più o meno elevato). Nelle sperimentazioni sugli animali (ai quali si è dovuto ricorrere nell'impossibilità di misurare nell'uomo le concentrazioni di neurotrasmettitori e recettori nei microscopici spazi delle sinapsi e in aree inaccessibili del cervello) la sensibilità dei recettori risulta effettivamente alterata. Gli animali, posti in condizioni stressanti che non possono evitare o che non sono in grado di adattarsi al cambiamento ambientale, adottano comportamenti che ricordano quelli della depressione umana, con difficoltà nel riposare ed alimentarsi, con un rallentamento psicomotorio, la perdita della capacità di aver cura di sé, la manifestazione di stereotipie, disturbi compulsivi e le sociopatie sia su base ansiosa che su base aggressiva. Inoltre, nel loro cervello, la sensibilità di alcuni recettori della noradrenalina è marcatamente alterata: quelli dell'ippocampo diventano più sensibili, mentre quelli dell'ipotalamo risultano meno sensibili e l'utilizzo di alcuni farmaci ripristina invece la normale sensibilità (Cooper, 1996).

## COME FUNZIONA IL CERVELLO?

Un trilione corrisponde a mille miliardi. È questo, all'incirca, il numero di cellule del sistema nervoso di un essere umano che sicuramente presenta molte più cellule nervose rispetto ad un animale. Ogni cellula nervosa (o neurone) nel cervello può giungere ad avere diverse migliaia di connessioni con altri neuroni. Da queste connessioni tra neuroni si può formare un numero praticamente infinito di circuiti nervosi, ognuno dei quali corrisponde a un concetto, a un'idea, a un sentimento, a un impulso ad agire (Stahl, 1999).

Come avviene la trasmissione di un impulso nervoso da un neurone all'altro? Esiste una piccola struttura intercellulare chiamata sinapsi nella quale, all'arrivo dell'impulso nervoso, si diffonde una sostanza fisiologica definita "neurotrasmettitore" che eccita il neurone successivo e rende possibile la trasmissione nervosa, anche elettrica. Tali neurotrasmettitori possono avere carattere eccitatorio o inibitorio, e dalla sintesi dei vari impulsi ricevuti il neurone può inviare o meno un nuovo impulso. Esistono molti neurotrasmettitori e i principali sono rappresentati dall'acetilcolina (nelle sinapsi di tipo colinergico quali quelle relative alla fibra muscolare e agli effettori pregangliari del sistema nervoso autonomo) e la noradrenalina (presente nelle sinapsi adrenergiche quali gli effettori postgangliari ortosimpatici) (Somogyi, 1998). La noradrenalina è anche un ormone secreto con il rapporto di 1 a 4 insieme all'adrenalina dalla midollare delle ghiandole surrenali, proprio su stimolazione ortosimpatica. Altri importanti neurotrasmettitori del cervello sono la dopamina, la serotonina, aminoacidi quali il GABA (acido gamma-aminobutirrico) e il glutammato (Rudolph, 1999). Una regola fondamentale (molto importante per capire come funziona il cervello) è che due neurotrasmettitori differenti non possono legarsi allo stesso recettore anche se lo stesso neurotrasmettitore può legarsi a recettori differenti e ciò fa comprendere come ci sia un grande ordine in una massa così fitta di neuroni. I recettori più diffusi nel cervello, come precedentemente accennato, sono quelli a struttura proteica più semplice come il GABA e l'acido glutammico. Il GABA è il neurotrasmettitore inibitorio di gran lunga più importante in quanto implicato nella fisiopatogenesi dell'ansia; infatti rende il neurone refrattario agli stimoli eccitatori e inibisce la trasmissione nervosa. Nell'ansia vi è certamente una riduzione dei livelli del GABA e ciò spiega l'agitazione e la risposta ansiosa. I farmaci "tranquillanti" come le benzodiazepine vanno a legarsi proprio ai recettori del GABA e, mutandone la forma, ne aumentano l'affinità col neurotrasmettitore stesso. I farmaci ansiolitici dunque non riducono l'ansia per una loro specifica proprietà terapeutica ma soltanto perché favoriscono la naturale azione tranquillante del GABA (Rudolph, 1999). Neurotrasmettitori come l'acetilcolina, la serotonina, la dopamina e la noradrenalina pur avendo concentrazioni cerebrali piuttosto basse, rivestono notevole importanza essendo protagonisti dei processi cognitivi ed emotivi. La loro azione si esplica in maniera più lenta rispetto al GABA ma più persistente e può coinvolgere altri apparati come quello ormonale. Anche la noradrenalina è una protagonista del cervello emozionale, essendo coinvolta nella regolazione dei comportamenti di emergenza e nella risposta allo stress (Möhler, 2001). Regolando la risposta del sistema nervoso simpatico a livello viscerale, promuove l'aumento del battito cardiaco, della pressione arteriosa, della mobilitazione degli zuccheri, della dilatazione dei bronchi e naturalmente del rilascio di adrenalina, mentre la dopamina è il principale neurotrasmettitore del cervello emozionale. Oltre ad avere un ruolo fondamentale nel coordinamento del comportamento motorio è determinante per i comportamenti adattativi e le conseguenti implicazioni affettive. Ad esempio i processi emozionali del piacere e della ricompensa sono regolati dalla dopamina al pari delle gratificazioni conseguenti al mangiare, al bere, al riprodursi, al successo nella lotta e nella competizione o all'euforia connessa allo scampato pericolo. La trasmissione dopaminergica risulta dunque correlata alla fisiologia del rinforzo psicologico e quindi è determinante nei processi di apprendimento (Cooper, 1996).

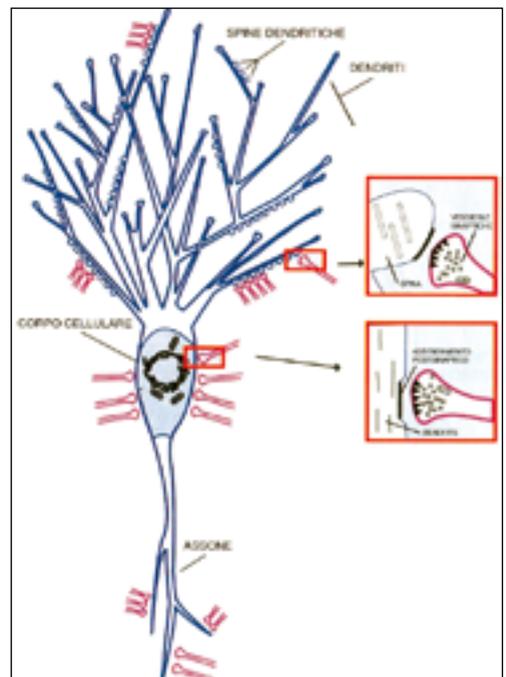
La serotonina è un mediatore nervoso scoperto più recentemente che ha una presenza limitata nel cervello ma non per questo di secondaria importanza. Ha un grande ruolo infatti nella regolazione del sonno e del sogno e nell'equilibrio di numerosi parametri corporei. Esiste un'altra classe di neurotrasmettitori la cui scoperta ha fatto meglio comprendere la biochimica di un mammifero. I neuropeptidi sono molecole proteiche che svolgono molteplici funzioni nel sistema nervoso ma che sono rilasciate non solo dai neuroni ma anche da altri organi come l'intestino, il cuore e il pancreas. Tali sostanze agiscono come neurotrasmettitori nel cervello e come ormoni su vari organi bersaglio e hanno la fondamentale funzione di integrare i meccanismi fisiologici e i processi comportamentali. Le endorfine fanno parte della famiglia dei neuropeptidi e sono molto importanti nella modulazione della percezione del dolore e per il tono dell'umore. L'azione è di tipo morfino-simile e i derivati dell'oppio hanno gli stessi recettori delle endorfine che hanno un'azione inibitoria sui neuroni con cui stabiliscono un legame a livello dei recettori. Importante è la loro presenza nelle strutture del sistema limbico e questo spiega l'influenza sui comportamenti e sulle emozioni: vari esperimenti confermano il ruolo delle endorfine, di concerto con dopamina e noradrenalina, nel meccanismo della cosiddetta "ricompensa cerebrale" che favorisce il ripetersi dei comportamenti tendenti alla soddisfazione dei bisogni organici connotati con l'esperienza del piacere (Stahl, 1999).

## LA SINAPSI

La neurotrasmissione chimica meglio conosciuta avviene a livello delle sinapsi, cioè siti specializzati che connettono due neuroni che sono organizzati in modo tale da poter inviare e ricevere informazioni sinaptiche da altri neuroni. Ciò avviene attraverso una lunga diramazione assonale che si ramifica in fibre terminali pronte a stabilire un contatto sinaptico con altri neuroni. La figura 1, mostra l'organizzazione di un neurone per ricevere le informazioni sinaptiche attraverso dendriti, corpo cellulare e assone. La neurotrasmissione chimica può essere descritta secondo tre dimensioni: spazio, tempo e funzione (Sthal, 1999).

### **Spazio: indirizzo anatomico del sistema nervoso**

Tradizionalmente il sistema nervoso centrale è stato considerato come una serie di connessioni sinaptiche cablate tra i neuroni, non differenti dall'insieme di cavi telefonici che connettono migliaia di impianti telefonici (figura 2). I neuroni hanno la capacità di inviare gli impulsi elettrici da una parte all'altra della loro struttura cellulare tramite la conduzione assonale, ma questi impulsi elettrici non sono in grado di passare direttamente ai neuroni vicini, infatti la comunicazione tra questi avviene tramite il rilascio da parte del primo neurone di un messaggero chimico, o neurotrasmettitore, che si lega a recettori specifici presenti



*Figura 1: Organizzazione di un neurone per la ricezione di informazioni sinaptiche nei dendriti e nelle spine dendritiche, così come il corpo cellulare e l'assone possono ricevere input presinaptici provenienti da altri neuroni. (Sthal, 2000 modificata).*

nella membrana del secondo neurone. Ciò significa che un impulso elettrico nel primo neurone viene convertito in un segnale chimico a livello della sinapsi tra il primo e il secondo neurone, attraverso un processo noto come neurotrasmissione chimica (Cooper, 1996).

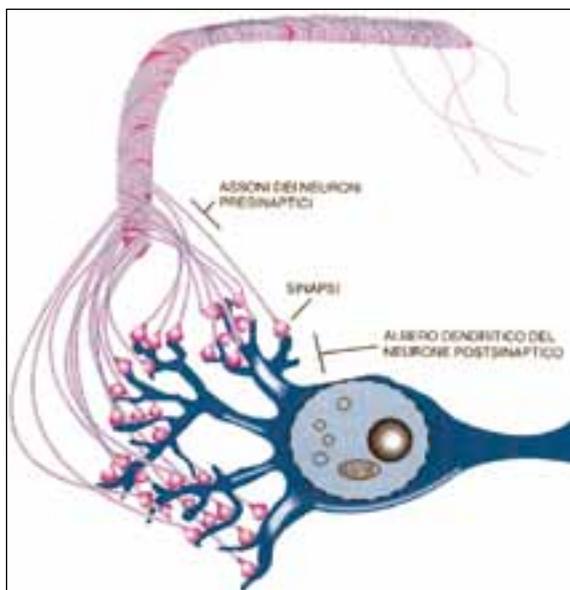


Figura 2: si evidenzia un cavo di assoni provenienti da numerosi neuroni che giungono a formare connessioni sinaptiche con l'albero dendritico di un neurone postsinaptico (Sthal, 2000 modificata).

quelli dei neurotrasmettitori glutammato e acido gamma-aminobutirrico (GABA) (Möhler, 2001). Il glutammato è un neurotrasmettitore che stimola universalmente quasi tutti i neuroni, mentre il GABA è un messaggero che inibisce pressoché tutti i neuroni. I segnali di entrambi questi neurotrasmettitori viaggiano rapidamente poiché il loro legame al recettore modifica in breve tempo il flusso di ioni, alterando pertanto l'eccitabilità del neurone in pochi millisecondi. Per contro, i segnali di altri neurotrasmettitori possono impiegare da molti millisecondi ad alcuni secondi per svilupparsi. Talvolta questi neurotrasmettitori lenti vengono definiti neuromodulatori, dato che i segnali di più lunga durata possono permanere nel tempo e, così facendo, possono modulare l'azione del neurotrasmettitore successivo. Anche se i loro segnali possono impiegare secondi per svilupparsi, la cascata biochimica che innescano può durare svariati giorni (Amara, 2002).

### **Funzione: eventi presinaptici**

La terza dimensione della neurotrasmissione chimica è rappresentata dalla "funzione", cioè da quella cascata di eventi molecolari e cellulari messi in atto dal processo di trasmissione chimica.

Un impulso elettrico nel primo neurone presinaptico viene convertito in un segnale chimico a livello della sinapsi attraverso un processo noto come accoppiamento "eccitazione-secrezione" e una volta che l'impulso elettrico raggiunge il terminale assonale presinaptico, deter-

### **Spazio: indirizzo chimico del sistema nervoso**

Più recentemente è stata descritta una neurotrasmissione senza sinapsi, ove i messaggeri chimici inviati da un neurone possono raggiungere per diffusione siti distanti dalla sinapsi. Pertanto la neurotrasmissione può avvenire a livello di qualsiasi recettore che si trovi all'interno del raggio di diffusione del neurotrasmettitore, non diversamente dalla moderna telefonia cellulare senza fili che funziona all'interno del raggio di copertura di una determinata cella telefonica. Il cervello non è dunque solo un groviglio di cavi, ma anche un insieme di sofisticate reazioni chimiche e l'indirizzo chimico del sistema nervoso è particolarmente importante per comprendere le azioni dei farmaci che agiscono a livello di vari recettori neurotrasmettitoriali.

### **Tempo: segnali rapidi e segnali lenti**

Alcuni segnali neurochimici si trasmettono piuttosto velocemente, liberandosi entro pochi millisecondi da quando il recettore viene occupato dal neurotrasmettitore. Due dei migliori esempi di segnali rapidi sono



trasmettitore si lega ad un recettore, né quando il flusso di ioni viene modificato o quando vengono creati i secondi messaggeri ma procede ben oltre. Fine ultimo della neurotrasmissione è quello di alterare le attività biochimiche del neurone postsinaptico in modo profondo e duraturo. Dal momento che il DNA postsinaptico deve attendere che il mediatore abbia concluso il suo percorso dal recettore postsinaptico, può trascorrere del tempo prima che la neurotrasmissione inizi a influenzare i processi biochimici del neurone postsinaptico (Fig. 5). Il tempo che intercorre tra il legame del neurotrasmettitore al recettore e l'espressione genica è solitamente dell'ordine di ore. Inoltre, poiché solo l'ultimo messaggero stimolato dalla neurotrasmissione, cioè il fattore di trascrizione, dà inizio all'azione genica risulta necessario anche un tempo maggiore affinché l'attivazione genica sia completamente avviata. Questi eventi biochimici possono iniziare molte ore dopo la neurotrasmissione e, una volta attivati, possono durare giorni o settimane. Pertanto, il rapido rilascio di neurotrasmettitore chimico da parte di un neurone presinaptico può stimolare un'importante reazione postsinaptica, che impiega ore o giorni per svilupparsi e può durare giorni o settimane, o anche più a lungo. Ogni componente immaginabile in questo intero processo di neurotrasmissione chimica è potenzialmente candidato ad essere modificato dai farmaci. La maggior parte dei farmaci psicotropi agisce sui processi che controllano la neurotrasmissione chimica a livello del neurotrasmettitore stesso, dei suoi enzimi o specificamente dei suoi recettori. I farmaci psicotropi di nuova generazione agiranno senza dubbio direttamente sulle cascate biochimiche, in particolare su quegli elementi che controllano l'espressione dei geni pre e postsinaptici. Si ritiene che anche le patologie neurologiche e psichiche possano influenzare le stesse componenti della neurotrasmissione chimica.

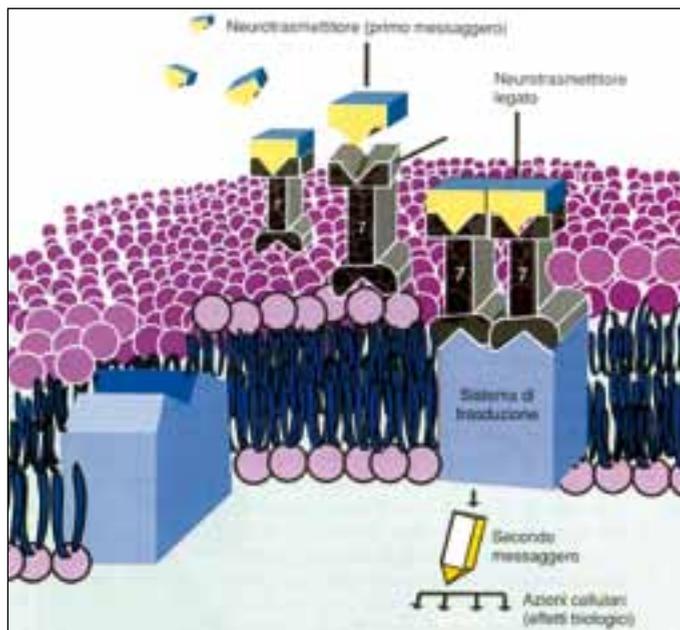


Figura 4: Membrana del neurone postsinaptico e schema del sistema di traduzione operata dal neurotrasmettitore come primo messaggero. Il secondo messaggero intracellulare postsinaptico è responsabile delle azioni cellulari e degli effetti biologici come la sintesi di un altro mediatore o l'alterazione di una frequenza di scarica (Sthal, 2000 modificata).

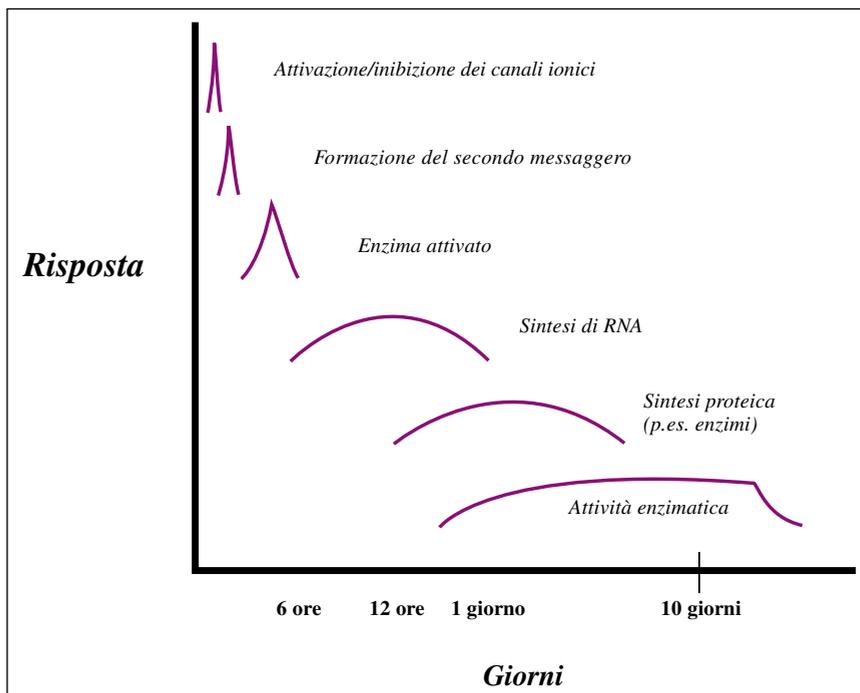


Figura 5: La figura illustra le fasi della risposta postsinaptica al neurotrasmettitore. In poche ore sono visibili le attivazioni verso i canali ionici e nella formazione del secondo messaggero, successivamente vengono attivati gli enzimi intracellulari con trascrizione dei geni e sintesi di RNA con conseguenti modificazioni funzionali enzimatiche che durano molti giorni.

## SVILUPPO NEUROLOGICO E PLASTICITÀ NEURONALE

La comprensione dello sviluppo del cervello umano sta avanzando a ritmo veloce. Lo sviluppo del cervello è più dinamico prima della nascita che durante la vita adulta e ai 5 anni di età nel bambino e a 4 mesi nel cane il volume cerebrale è superiore di quello adulto. Per Contro, diversi processi che influenzano la struttura cerebrale persistono per tutta la vita come la mielinizzazione delle fibre assionali e la ramificazione, o arborizzazione, dei neuroni in strutture simili ad alberi che continuano almeno nella fase adulta, e la sinaptogenesi si mantiene per tutto il corso della vita, di conseguenza, sia il neurone sia le sue sinapsi sono strutture relativamente “plastiche”, modificabili e malleabili. Recenti studi suggeriscono che, anche nei cervelli maturi di mammifero e in quelli umani, alcuni neuroni possono dividersi dopo la nascita. Ugualmente impressionante, tuttavia, è il riscontro che, periodicamente lungo tutto il ciclo della vita e in determinate situazioni, i neuroni degenerano attraverso un processo conosciuto come apoptosi. Infatti, fino al 90% dei neuroni che il cervello umano produce durante lo sviluppo fetale degenera per via apoptotica prima della nascita.

L'apparato della morte cellulare è rappresentato da una serie di geni che, se attivati, sono pronti a codificare per l'autodistruzione. Perché un neurone dovrebbe autodistruggersi? In realtà, se un neurone o il suo DNA vengono danneggiati da un virus o da una tossina, l'apoptosi risulta in grado di distruggere e, silenziosamente, rimuovere tutti i geni di quel determinato neurone compresi quelli malati, e ciò può servire a proteggere i neuroni sani circostanti.

## AZIONE DELLA SEROTONINA (5-HT)

La serotonina (5-idrossitriptamina, 5-HT) agisce prolungando il potenziale d'azione nelle terminazioni presinaptiche. La serotonina favorisce il rilascio del neurotrasmettitore anche alle terminazioni postsinaptiche, quindi la terminazione postsinaptica trasmetterà il messaggio ad altre cellule nervose adiacenti perché desidera condividere la sua eccitazione, relativa al messaggio, con altre cellule nervose che sono ad essa in relazione, impedendo che alcuni canali specifici nel neurone (chiamati canali S) si chiudano. Tali canali normalmente funzionano per promuovere la ripolarizzazione di un potenziale d'azione che avviene solo dopo che una cellula nervosa è stata eccitata, in modo che possa ritornare dallo stato eccitato al suo stato di riposo. Se i canali S sono bloccati, la ripolarizzazione non può avvenire e il neurone mantiene il suo stato eccitato più a lungo. Perciò, quando una cellula nervosa è eccitata in presenza di serotonina, rimane più viva e vitale più a lungo, prima di ritornare ad essere inattiva ed inerte e di conseguenza il cervello ha una maggiore energia, un'augmentata attività ed una maggiore abilità di concentrarsi sulla sua meta. Inoltre, quando le cellule nervose rimangono eccitate più a lungo, la plasticità avviene più rapidamente: la plasticità è la capacità per un neurone eccitato di disconnettersi da una sinapsi e riconnettersi ad un'altra per formare ulteriori nuove e più estese connessioni sinaptiche (Lodge, 1983).

## NEUROTRASMETTITORI E AGGRESSIVITÀ

Che cosa si altera dal punto di vista neurofisiologico nella manifestazione dei disturbi comportamentali degli animali da compagnia?

I neuroni sono cellule in continua attività, che formano un intricato sistema di connessioni, in grado di rispondere a tutti i tipi di segnali provenienti dall'ambiente. Una struttura costituita da una miriade di stazioni che si scambiano continuamente informazioni con modalità spaziali e temporali che possono essere modificate da esperienza, stress, apprendimento, etc. Dato che l'aggressività non è un concetto comportamentale unitario, la sua neuromodulazione coinvolge più di un sistema neurotrasmettitore e la serotonina è risultata essere un comune denominatore in gran parte della letteratura (Mann, 1995) e le tendenze aggressive di natura emozionale e quelle non emozionali sono incrementate da alterazioni a carico del sistema centrale serotoninergico (Sheard, 1984). Data la complessità di questo sistema neurotrasmettoriale, e le sue relazioni con altri sistemi, i risultati di studi eseguiti sugli animali sono talvolta contraddittori forse perché la definizione e le funzioni dell'aggressività sono varie, e gli studi comparativi non possono essere messi facilmente a confronto (Valzelli e Bernasconi, 1979).

Spesso studi del ruolo della serotonina sul comportamento animale sono risultati inconsistenti sia nei metodi sia nelle scoperte. Alcuni tipi di aggressività sono influenzate in modo più marcato di altre, o sono associate a cambiamenti del sistema serotoninergico, infatti di norma la serotonina e i suoi principali metaboliti sembrano modulare le risposte comportamentali mediante inibizione: la sua deplezione attraverso una varietà di mezzi, dà vita a disinibizione o impulsività (Soubrie, 1986; Mehlman *et al.*, 1994) con alterazione delle risposte comportamentali, ipereccitabilità e iper-reattività (Reisner *et al.*, 1996, Riva *et al.*, 2008).

Il comportamento aggressivo è rilevabile in animali con livelli di serotonina cerebrale fisiologicamente bassi come ad esempio nei topi che rispondono a una condizione di isolamento con un incremento delle lotte fra maschi, presentando una riduzione della funzione della serotonina (Valzelli e Bernasconi, 1979); oppure una disfunzione centrale è stata associata con la dominanza e il comportamento aggressivo in studi condotti su scimmie non antropomorfe sia in laboratorio sia in ambiente naturale. Diversi studi hanno evidenziato che un bas-

so livello di 5-HT è correlato con l'aggressività, con la dominanza e la sottomissione (variando in base alla specie studiata).

Nei cercopitechi, che stabiliscono dei gruppi sociali relativamente stabili, le concentrazioni ematiche di serotonina variano secondo il rango e sono più elevate nel sangue degli animali dominanti. Se l'animale dominante viene allontanato dal gruppo, il suo livello ematico di 5-HT si riduce e risulta uguale a quello ritrovato negli individui subordinati; quando il soggetto viene reinserito nel gruppo, il suo livello ematico di 5-HT ritorna alla concentrazione originale (Raleigh et al., 1984). In questa specie la dominanza maschile sembra dipendere, dal punto di vista comportamentale, dalle relazioni di parentela con individui di sesso femminile e perciò sembra che siano le femmine a scegliere quale maschio diventerà il dominante. Il raggiungimento di un alto rango sociale in questa specie (e in altre scimmie) sembra dipendere meno dall'aggressività piuttosto che da altri comportamenti come l'attività di grooming (Raleigh et al., 1991).

Nei macachi che vivono in libertà, gli individui che esibiscono comportamenti a rischio e un'aggressività più intensa nei confronti delle altre scimmie hanno anche livelli più bassi nel liquido cefalorachidiano (LCR) di acido 5-idrossiindolacetico (5-HIAA, un metabolita della serotonina e un indicatore indiretto della concentrazione centrale di 5-HT). Gli autori di questo importante studio hanno dedotto che l'intensificata aggressività nei maschi con bassi livelli di 5-HIAA nel LCR può essere dovuta a un alterato controllo degli impulsi (Mehlman et al., 1994).

I primi studi sulla violenza umana formulavano delle ipotesi sulle cause biologiche dell'aggressività: lo scoppio di rabbia o un'episodica perdita di controllo (Bach-Y-Rita et al., 1971), sono stati trattati in campo umano come una manifestazione di numerosi disordini, compresa l'epilessia (Ervin et al., 1970). Nella maggior parte dei casi, non è comunque stata identificata una specifica causa eziologica e, in uno studio su larga scala, gran parte dei pazienti con perdita di controllo risultavano essere "irrilevanti dal punto di vista psichiatrico" fra un attacco di rabbia e l'altro (Elliott, 1982), suggerendo in tal modo che l'aggressività è un sintomo piuttosto che una diagnosi specifica.

Rifacendosi alla scala di Moyer (1968) sull'intensità dell'aggressività il termine "rabbia" è stato utilizzato per descrivere l'improvvisa aggressione da parte di un cane nei confronti dell'uomo, soprattutto in alcune razze (Rafe, 1987). In realtà la grande maggioranza dei casi di aggressività canina sembrano essere risposte normali a provocazioni involontarie che generano risposte conflittuali a causa dell'incongruenza di messaggi (Reisner, 2002). L'aggressività impulsiva (disturbo dell'impulsività) probabilmente sfocia nella "rabbia", ma a questo punto, la diagnosi non può essere confermata.

Studi sulla violenza e sull'impulsività negli uomini hanno notevolmente ampliato le conoscenze sul ruolo della funzione centrale serotoninergica, nel contesto di un comportamento sociale. In persone violente e impulsive a tutti i livelli di disfunzione psichiatrica è stato individuato un basso valore di 5-HIAA nel liquido cefalorachidiano (Linnoila et al., 1983) e tale situazione di norma indica più facilmente reazioni di impulsività che di violenza, dato che l'aggressività è soltanto una manifestazione di una più generale impulsività. L'effetto disinibitorio del ridotto metabolismo della serotonina su comportamenti altrimenti inibiti, è stato dimostrato anche in altre specie (Soubrie, 1986). Alla luce di queste scoperte, è stato suggerito il termine "sindrome da basso livello di serotonina" (Linnoila e Virkkunen, 1992), visto che coloro che lo hanno proposto sono giunti alla conclusione che il basso livello di 5-HIAA nel LCR è un marker che indica specificatamente un insufficiente controllo dell'impulso, piuttosto che un'aumentata motivazione aggressiva.

Nei cani, un confronto fra i metaboliti monoaminici contenuti nel LCR ha evidenziato che la concentrazione nel liquor di 5-HIAA si mostrava inferiore in soggetti nei quali era stata diagnosticata un'aggressività da dominanza, piuttosto che nei soggetti controllo (Reisner et al.,

1996). Tale sostanza era anche in concentrazione inferiore in un sottogruppo di cani aggressivi con un passato di episodi di morsicatura non preceduti da segnali di avvertimento (cioè senza ringhi percettibili o altro segnale di previsione) rispetto al valore della stessa sostanza riscontrata in cani che mettevano in atto questi segnali d'avvertimento; tutto ciò suggerisce che la ridotta funzionalità serotoninergica è associata a un comportamento aggressivo e a un insufficiente controllo dello stimolo eccitativo nei cani, così come nelle altre specie studiate. Alti livelli di serotonina cerebrale e di 5-HIAA sono stati evidenziati in volpi argentate allevate in cattività e selezionate per la loro ridotta aggressività difensiva nei confronti degli uomini che le manipolavano, confrontate con un gruppo controllo costituito da animali non selezionati (Popova et al, 1991), evidenziando che questa relazione è presente anche in altre specie animali. Sono necessari molti studi sui cani e sui gatti per chiarire ulteriormente l'interessante legame fra neurochimica e comportamento.

Tali studi e altri ancora aiutano a sottolineare la differenza fra il comportamento sociale e l'aggressività. Spesso i cani che morsicano i proprietari possono fare ciò in contesti collegati alla dominanza sociale, ma la loro motivazione può essere basata quasi interamente sull'ansia.

Infatti, mentre la classica aggressività da dominanza appare nei cani come una risposta normale a una provocazione sociale, l'aggressività non prevedibile e violenta (nei confronti di qualsiasi bersaglio e per ogni ragione) può indicare una disfunzione serotoninergica centrale. Una soglia di aggressività più bassa di quanto si supponga, perfino all'interno di un normale conflitto sociale, può anche essere l'espressione di una disfunzione neurochimica. Tale disfunzione potrebbe anche sfociare in un'aggressività sociale prima dell'età tipica in cui quest'ultima solitamente si manifesta e rispondere a una terapia farmacologica che preveda la somministrazione di un inibitore della ricaptazione della serotonina.

Sebbene i meccanismi neurofisiologici che sono alla base delle reazioni aggressive siano strutturati in modo molto sofisticato e coinvolgano diverse strutture neurali, il comportamento aggressivo in quanto tale è il risultato di una complicata interazione tra elementi innati e appresi. I circuiti neurologici coinvolti sono molteplici ma ancora non ampiamente studiati, in particolare quelli coinvolti nelle forme di aggressività affettiva sia offensiva che difensiva, caratterizzata da stato di allerta, attivazione del sistema nervoso autonomo e aggressioni fisiche messe in atto in risposta a minacce o a sfide percepite anche se non reali (Dodman, 1998).

Nell'instaurare e nel mantenere atteggiamenti e comportamenti ansiosi e aggressivi su base ansiosa sembra che siano implicate variazioni dei livelli di serotonina (Raleigh, 1985; 1991) e di catecolamine a livello centrale, in particolare adrenalina e dopamina (Eichelman, 1987).

## NEUROTRASMETTITORI E COMPORTAMENTO NEL CANE: SINTESI DEI RISULTATI DI RICERCHE SPERIMENTALI

Recentemente presso la Facoltà di Medicina Veterinaria di Milano sono stati effettuati studi riguardanti le possibili relazioni tra livelli di neurotrasmettitori e comportamento.

*A) Riva J, Bondiolotti G, Michelazzi M, Verga M, Carenzi C, 2008. Anxiety related behavioural disorders and neurotransmitters in dogs. Applied Animal Behaviour Science 114 (2008) 168–181.*

Nel primo lavoro sono stati utilizzati due campioni di cani: 20 soggetti con disturbi comportamentali manifestanti problemi di ansia generalizzata, ansia da separazione, fobie, disturbi compulsivi e aggressività su base ansiosa, in accordo con i modelli di classificazione diagnostica presenti in letteratura (Overall, 1997) e 13 soggetti controllo, quindi non affetti da

problemi comportamentali. La sperimentazione ha messo a confronto i livelli nel plasma di DA (dopamina), NA (noradrenalina), 5-HT (serotonina), 5-HIAA (acido 5-idrossi-indolacetico), L-Dopa e DOPAC (metabolita acido della dopamina) e di NA, DA e 5-HT piastriniche.

Per ogni soggetto è stata prodotta una scheda comportamentale, con il fine di suddividere i soggetti patologici rispetto al controllo e di classificare le patologie comportamentali stesse secondo le classificazioni in letteratura (Overall, 1997).

I valori plasmatici di NA, DA e 5-HT riferiti al cane e riscontrati in letteratura sono simili a quelli trovati in questa ricerca (Da Prada et al., 1979, Roche et al., 2002). Le differenze tra i due gruppi sono riportate nella tabella 1.

**Tabella 1: Concentrazioni dei valori plasmatici nei due gruppi di soggetti studiati. A lettere diverse corrispondono differenze statisticamente significative (P<0.01).**

	NA ng/ml	L-DOPA ng/ml	DOPAC ng/ml	DA ng/ml	5-HT ng/ml	5-HIAA ng/ml
<b>CONTROLLO</b>	0.256 <sup>a</sup> ±0.087	1.630 <sup>a</sup> ± 0.587	0.610 <sup>a</sup> ±0.192	0.030 <sup>a</sup> ± 0.001	5.94 <sup>a</sup> ± 3.20	5.59 <sup>a</sup> ± 1.59
<b>ANSIOSI</b>	0.229 <sup>a</sup> ± 0.078	2.041 <sup>a</sup> ± 0.890	0.767 <sup>a</sup> ± 0.309	0.074 <sup>b</sup> ± 0.071	24.95 <sup>b</sup> ± 36.64	6.68 <sup>a</sup> ± 4.13

Mentre i livelli di NA e degli altri metaboliti plasmatici non hanno mostrato alcuna differenza statisticamente significativa, una differenza è emersa per la DA (P<0.01) e per la 5HT (P<0.01): DA e 5-HT risultano essere più elevate nel gruppo dei soggetti ansiosi rispetto al gruppo controllo. Ciò potrebbe suggerire l'esistenza di una relazione tra questi due neurotrasmettitori e il manifestarsi di comportamenti ansiosi e di aggressività su base ansiosa.

Anche i livelli piastrinici di 5-HT sono molto simili rispetto a quanto trovato in letteratura da altri autori nel cane (Mezzano et al., 1991; Claggett et al., 1981; 1987). Al contrario, nel cane non sono stati trovati riferimenti riguardo alla concentrazione piastrinica di DA e NA.

I valori piastrinici di DA e NA sono simili tra i due gruppi, mentre un valore tendenzialmente più basso è stato riscontrato per la 5-HT nel gruppo ansiosi rispetto ai controlli (P<0.01) (Tabella 2).

**Tabella 2: Concentrazioni dei valori piastrinici nei due gruppi.**

	NA ng/mg prot	DA ng/mg prot	5-HT ng/mg prot
<b>CONTROLLI</b>	0.133 ± 0.047	0.0552 ± 0.018	509 <sup>a</sup> ± 100
<b>ANSIOSI</b>	0.124 ± 0.061	0.074 ± 0.039	425 <sup>b</sup> ± 117

Per quanto riguarda la serotonina esiste un diverso gradiente di concentrazione tra plasma e piastrine mantenuto da un meccanismo attivo rappresentato dal carrier per l'indolamina (5-HT); probabilmente il carrier è meno efficiente e di conseguenza nei cani problematici viene trasportata meno serotonina all'interno delle piastrine, rimanendo quindi più concentrata nel plasma (Gordon e Olverman, 1978).

Lo studio delle concentrazioni ematiche di catecolamine e di 5-HT (nell'uomo e nel coniglio) mette infatti in evidenza che nelle piastrine la concentrazione di tali sostanze è superiore rispetto al plasma, in particolare la serotonina, dimostrando chiaramente che le stesse hanno un meccanismo di trasporto attivo più efficiente per la serotonina che non per le catecolamine (Da Prada e al., 1979) che, infatti, attraversano la membrana con un meccanismo prevalentemente passivo (diffusione).

Le numerose somiglianze biochimiche e farmacologiche tra le piastrine e i neuroni serotoninergici centrali (Da Prada et al., 1988) indicano le piastrine come un reale modello per lo studio del meccanismo del trasportatore per la serotonina. E' stato infatti dimostrato che le proteine neuronali e quelle piastriniche sono codificate dallo stesso gene (Cook et al., 1994; Ramamoorthy et al., 1993).

I risultati di tale studio suggeriscono che la riduzione della funzionalità serotoninergica centrale può essere associata, anche nel cane, a disturbi comportamentali su base ansiosa, compresi quelli aggressivi. I dati ottenuti possono fare ipotizzare perciò che in cani ansiosi ci possa essere una diminuzione dell'attività del carrier anche a livello del sistema nervoso centrale (SNC), con una conseguente diminuita attività serotoninergica.

*B) Riva J, Marelli SP, Redaelli V, Luzi F, Bondiolotti G.P, Sforzini E, Santoro M.M., Carenci C, Verga M., 2011. The effects of drug detection training on behavioral reactivity and blood neurotransmitter levels in drug detection dogs: a preliminary study. Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research, In Press.*

Il secondo lavoro è stato effettuato presso il centro cinofilo della Guardia di Finanza di Castiglione del Lago (PG) su 20 cani utilizzati per l'addestramento antidroga.

Lo scopo di questo lavoro è stato quello di analizzare gli effetti dell'addestramento sul comportamento e sui livelli neurotrasmettitoriali in cani antidroga, per investigare le variabili che influenzano la reattività dei cani e la loro risposta all'addestramento. Tutti i soggetti sono nati, cresciuti, gestiti e addestrati nelle stesse condizioni e nello stesso luogo e hanno svolto il medesimo addestramento. La reattività comportamentale dei soggetti è stata valutata tramite un punteggio tramite un test standardizzato per valutare le naturali attitudini del cane in accordo con il protocollo di Svartberg (2005). I campioni di plasma sono stati analizzati tramite metodologia HPLC per valutare le concentrazioni di adrenalina (A), la noradrenalina (NA), L-DOPA, l'acido omovanillico (HVA), l'acido 3,4-diidroxy-fenilacetico (MHPG), mentre l'acido idrossi-indolacetico (5-HIAA) e la serotonina (5HT) sono stati anche analizzati anche nel pellet di piastrine in ogni soggetto. Le analisi sono state svolte considerando l'addestramento, la razza e il sesso come variabili indipendenti.

Bassi livelli di serotonina piastrinica e di di 5-HIAA sono stati trovati dopo la fase di addestramento. La concentrazione plasmatica di L-DOPA è differente a seconda del sesso in quanto i maschi mostrano una maggior livello di concentrazione.

Sono state evidenziate differenze statisticamente significative prima e dopo l'addestramento per alcune variabili comportamentali: bassi punteggi dopo l'addestramento sono stati osservati per alcuni sub-test relativi alla 'socievolezza' quali 'la reazione al contatto con l'estraneo' ( $P \leq 0.05$ ) e la 'cooperazione' ( $P \leq 0.01$ ). I punteggi per la 'cooperazione' ( $P \leq 0.05$ ) e la 'reazione ai contatti fisici' ( $P \leq 0.01$ ) erano negativamente influenzati dall'addestramento dopo la sessione di ricerca antidroga.

Il dato relativo alla 'aggressività' era influenzato dall'addestramento solamente nel sub-test relativo 'all'interesse verso l'estraneo' con una riduzione del punteggio dopo l'addestramento ( $P \leq 0.01$ ).

Gli effetti significativi della razza si sono potuti osservare con una riduzione del punteggio per i Pastori Tedeschi rispetto i Labrador Retriever nella 'cooperazione' e nella 'reazione al contatto fisico' nella valutazione della socievolezza con un estraneo. La 'giocosità' si è manifestata con un punteggio maggiore nei Labrador Retriever così come nella 'cooperazione' e nella reazione al contatto fisico' ( $P \leq 0.05$ ) mostrando una maggior socievolezza e giocosità di questa razza nei confronti del Pastori Tedeschi.

Bassi livelli di serotonina piastrinica e di 5HIAA sono stati ottenuti dopo l'addestramento (5HT:  $548,69 \pm 103,39$  vs.  $127,07 \pm 103,80$  ng/mg proteine;  $P \leq 0.01$  (Grafico 1); 5-HIAA

$3,72 \pm 1,10$  vs.  $0,46 \pm 1,10$  ng/mg proteine;  $P \leq 0,05$  (Grafico 2). I livelli plasmatici di L-DOPA differiscono tra i sessi ( $1,75 \pm 0,16$  vs.  $1,24 \pm 0,17$  ng/mg proteine;  $P \leq 0,05$ ) con una concentrazione maggiore tra i maschi rispetto le femmine (grafico 3).

I pochi studi disponibili indicano che le sessioni di addestramento prolungate inducono un decremento della sensibilità recettoriale negli animali (Dey, 1994; Seguin et al., 1998) e nella specie umana (Jakeman et al., 1994; Brooks et al., 1999) mostrando una desensibilizzazione o "down regulation" dei recettori centrali serotoninergici.

Incremento e decremento dei livelli e del turnover della serotonina e del 5-HIAA a seguito di acuti e prolungati esercizi nell'addestramento sono stati descritti in alcune regioni cerebrali: ad esempio Dey e collaboratori (1992) hanno descritto alterazioni non solo nell'attivazione della sintesi ma anche nel metabolismo della serotonina e del suo principale metabolita nella corteccia cerebrale (Meeusen et al., 2006; Wilson and Marsden., 1994, Kurosawa et al., 1993).

Tali risultati sottolineano l'importanza di completi e oggettivi protocolli di valutazione sui cani sia prima, sia durante, sia dopo le fasi di addestramento antidroga per verificare le efficienti strategie delle procedure di addestramento.

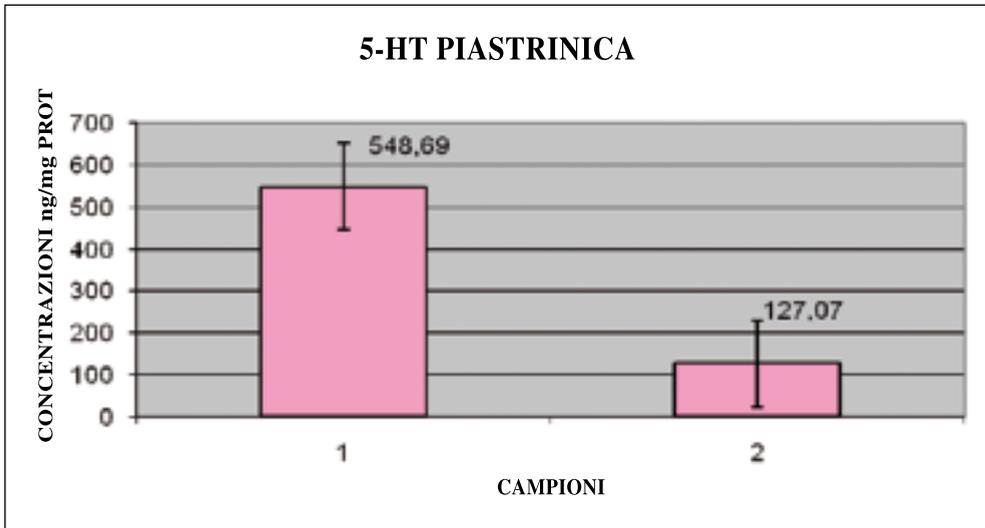


Grafico 1) Livelli della serotonina (5HT) ( $\pm$  S.D.),  $N=20$ , prima (1) e dopo (2) l'addestramento: ng/mg prot.  $548.69 \pm 103.39$  vs.  $127.07 \pm 103.80$  [ $P \leq 0,01$ ]

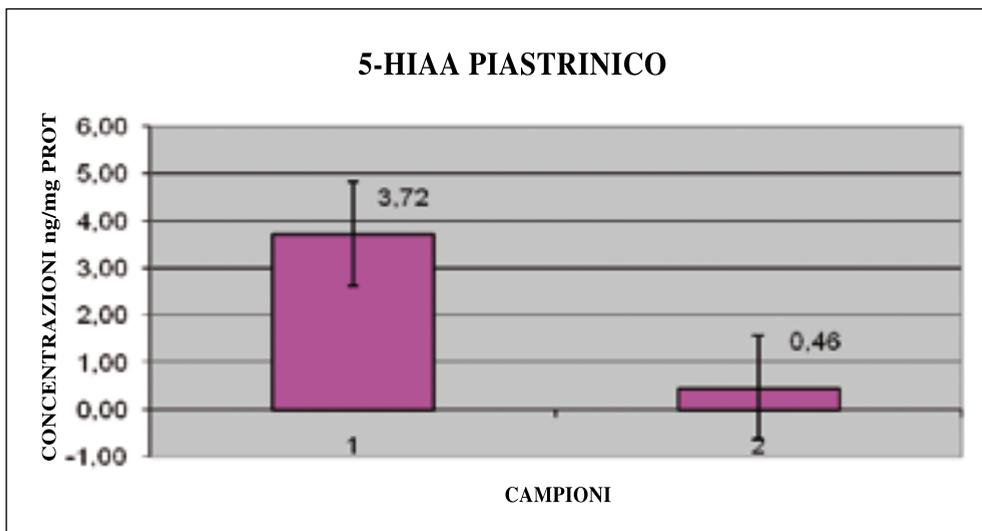


Grafico 2) Livelli dell'acido indolacetico (5HIAA) ( $\pm$  S.D.), N=20, prima (1) e dopo (2) l'addestramento: ng/mgprot.  $3.72 \pm 1.10$  vs.  $0.46 \pm 1.10$  [ $P \leq 0.05$ ]

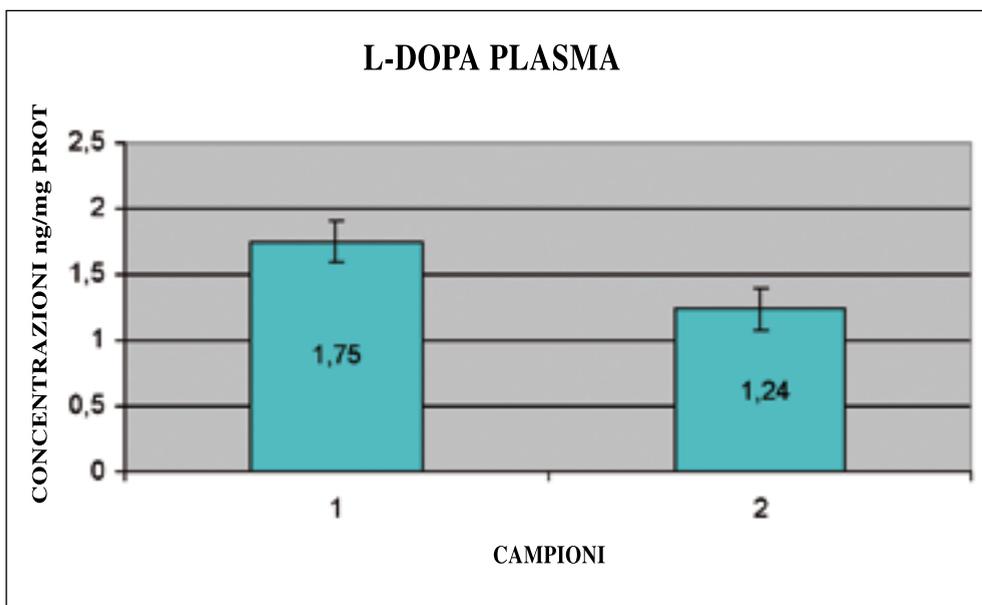


Grafico 3) Livelli plasmatici di L-Dopa ( $\pm$  S.D.), N=20, prima (1) e dopo (2) l'addestramento: ng/mg prot.  $1.75 \pm 0.16$  vs.  $1.24 \pm 0.17$  [ $P \leq 0.05$ ].

L'ipotesi sulle relazioni tra alcune problematiche comportamentali e la concentrazione ematica di alcuni neurotrasmettitori ha stimolato numerosi studi in diverse specie, compreso l'uomo, volti ad accertare un deficit di trasmissione monoaminergica oltre ad un'alterata sin-

tesi e distruzione dei neurotrasmettitori a seguito di sforzo fisico, intenso e prolungato. Sembra ipotizzabile una relazione tra alterate concentrazioni di alcuni neurotrasmettitori e disturbi comportamentali su base ansiosa in numerose specie.

Tali relazioni, presenti anche nel cane, sono state verificate nelle ricerche riportate: tali studi, infatti, hanno permesso di valutare la relazione tra i problemi comportamentali di tipo ansioso e l'aggressività affettiva (su base ansiosa) con i livelli plasmatici e piastrinici di alcune amine e loro metaboliti nel cane oltre alla relazione tra l'addestramento cronico e continuo, e il decremento della sensibilità recettoriale che comporta la riduzione delle concentrazioni di tali sostanze.

Ulteriori indagini sui neurotrasmettitori, sia dal punto di vista centrale che periferico sono auspicabili, valutando anche la possibilità di condurre ricerche più approfondite nella complessa struttura della relazione tra comportamento e sistema nervoso. Sarebbe inoltre importante riuscire a comprendere meglio il ruolo della predisposizione genetica nella manifestazione di un problema comportamentale, unitamente all'importanza del ruolo che potrebbe avere l'ambiente di vita e di gestione nel manifestare tali disturbi.

Attualmente, in collaborazione con la sezione di Scienze Mediche Veterinarie della Facoltà di Medicina Veterinaria di Milano e il Dipartimento di Farmacologia e tossicologia della Facoltà di Medicina e Chirurgia è in corso un nuovo studio sulle concentrazioni plasmatiche e piastriniche di tali neurotrasmettitori e fenomeni ansiosi e aggressivi nel gatto per verificare, anche in questa specie, tali relazioni, con la speranza di ottenere nuove informazioni sia dal punto di vista comportamentale che biochimico per una più corretta visione delle relazioni comportamentali e neurotrasmettitoriali negli animali domestici.

## BIBLIOGRAFIA CONSULTATA E CITATA

- 1) Amara SG and Fontana ACK, 2002. Excitatory amino acid transporters: keeping up with glutamate. *Neurochemistry International* 41: 313-318.
- 2) Bach-Y-Rita G., Lion J.R. et al. 1971. Episodic dyscontrol: a study of 130 violent patients. *American Journal of Psychiatry*: 127, 49-54.
- 3) Clagett, G.P, Russo, M., Hufnagel, H., 1981. Platelet changes after placement of aortic prostheses in dogs II. Impaired surface-induced arterial thrombosis. *J Lab Clin Med.*; 97(3):360-8.
- 4) Clagett, G.P., Hufnagel, H., Watkins, M.T., Sharefkin, J.B., 1987. Platelet survival and serotonin content after placement of arterial prostheses in dogs: effects of neointimal coverage and high- and low-dose aspirin. *J Vasc Surg.*;6(6):555-62.
- 5) Cook, E.H. Jr, Fletcher, K.E., Wainwright, M., Marks, N., Yan, S.Y., Leventhal, B.L., 1994. Primary structure of the human platelet serotonin 5-HT<sub>2A</sub> receptor: identify with frontal cortex serotonin 5-HT<sub>2A</sub> receptor. *J Neurochem.*;63(2):465-9.
- 6) Cooper JR, Bloom FE and Roth RH, 1996. *The biochemical basis of neuropharmacology.* Oxford University Press, New York.
- 7) Da Prada, M, Picotti, G.B., 1979. Content and subcellular localization of catecholamines and 5-hydroxytryptamine in human and animal blood platelets: monoamine distribution between platelets and plasma. *Br J Pharmacol* Apr;65(4):653-62.
- 8) Da Prada, M., Cesura, A.M., Launay, J.M., Richards, J.G., 1988. Platelets as a model for neurones? *Experientia.* 15;44(2):115-26.
- 9) Dey, S., 1994. Physical exercise as a novel antidepressant agent - possible role of serotonin receptor subtypes. *Phys. and Behav.* 55, 323-329.
- 10) Dodman, N.H., Shuster, L., 1998. *Psychopharmacology of Animal Behavior Disorders.* Blackwell Science, Inc., Madlen, USA.

- 11) Eichelman, B., 1987. Neurochemical and psychopharmacologic aspects of aggressive Behavior. In: Meltzer HY., *Psychopharmacology: the third generation of progress*. New York: Raven: 697-704.
- 12) Elliott F.A., 1982. Neurological findings in adult minimal brain dysfunction and the dyscontrol syndrome, *Journal of nervous and mental disease*: 170, 680-687.
- 13) Elliott F.A., 1982. Neurological findings in adult minimal brain dysfunction and the dyscontrol syndrome, *Journal of nervous and mental disease*: 170, 680-687.
- 14) Ervin FR, Sweet WH, Mark VH., 1970. Amygdala fnction in man; the problem of violent behavior. *Act Nerv Super (Praha)*. 12(2):185
- 15) Gordon, J.L., Olverman, H.J., 1978. 5-Hydroxytryptamine and dopamine transport by rat and human blood platelets. *Br J Pharmacol.*;62(2):219-26.
- 16) Linnoila M., Virkkunen M., 1992. Aggression, suicidality, and serotonin, *Journal of clinical Psychiatry*: 53, 46-51.
- 17) Linnoila M., Virkkunen M., et al., 1983. Low cerebrospinal fluid 5-hydroxyindolacetic acid concentration differentiates impulsive from nonimpulsive violent behavior, *Life Sciences*: 33, 2609-2614.
- 18) Lodge D, Anis NA, Berry SC and Burton NR, 1983. Arylcyclohexylamines selectively reduce excitation of mammalian neurons by aspartate like amino acids. In *Phencyclidine and related arylcyclohexylamines: present and future applications*, p. 595, edited by J-M Kamenka, EF Domino, P Geneste. NPP Brooks, Ann Arbor.
- 19) Jakeman, P.M., Hawthorne, J.E., Maxwell, S.R., Kendall, M.J., Holder, G., 1994. Evidence for down regulation of hypothalamic 5-hydroxytryptamine receptor function in endurance-trained athletes. *Experimental Physiology* 79, 461- 464
- 20) Kurosawa, M., Okada, K., Sato, A., Uchida, S., 1993. Extracellular release of acetylcholine, noradrenaline and serotonin increases in the cerebral cortex during walking in conscious rats. *Neuroscience Letters*. 161, 73-76.
- 21) Mann J.J., 1995. Violence and Aggression, in: Bloom F.E., Kupfer D.J., *Psychopharmacology: The fourth Generation of progress*, Raven Press, NY, 1919-1928.
- 22) Meeusen, R., Watson, P., Hasegawa, H., Roelands, B., Piacentini, M.F., 2006. Central fatigue - the serotonin hypothesis and beyond. *Sports Med*. 36, 881-909.
- 23) Mehlman P.T., Higley J.D. et al, 1994; Low CSF 5-HIAA concentrations and severe aggression and impaired impulse control in nonhuman primates, *American Journal of Psychiatry*: 151, 1485-1491.
- 24) Mezzano, D., Del Pino, G.E., Montesinos, M., Garcia, M.E., Aranda, E., Foradori, A., 1991. Platelet 5-hydroxytryptamine increases with platelet age in dogs. *Thromb Haemost.* Aug 1;66(2):254-8.
- 25) Möhler H, Crestani F and Rudolph U, 2001. GABA<sub>A</sub>-receptor subtypes: A new pharmacology. *Currenr Opinion in Pharmacology* 1: 22-25.
- 26) Moyer K.E., 1968. Kinds of aggression and their physiological basis, *Communications in Behavioral Biology*: 2, 65-87.
- 27) Overall, K.L., 1997. *Clinical Behavioral Medicine for Small Animals*. Mosby-Year Book, Inc., St Louis, Missouri.
- 28) Popova N.K., VNN et al., 1991. Evidence for the involvement of central serotonin in mechanism of domestication of silver foxes. *Pharmacology Biochemistry and behaviour*: 40, 751-756.
- 29) Rafe S.C., 1987. Springer rage, the non-existent syndrome, *Springer Companion*: 2, 16, 20, 22
- 30) Raleigh M.J., McGuire M.T. et al., 1984: Social environmental influences on blood serotonin concentrations in monkeys. *Archives of general Psychiatry*: 41, 405-410.
- 31) Raleigh, M.J., Brammer, G.L., McGuire, M.T., Yuwiler, A., 1985. Dominant social status

- facilitates the behavioral effects of serotonergic agonists. *Brain Res.* 2;348(2):274-82.
- 32) Raleigh, M.J., McGuire, M.T., Brammer, G.L., Pollack, D.B., Yuwiler, A., 1991. Serotonergic mechanisms promote dominance acquisition in adult male vervet monkeys. *Brain Res.* Sep 20;559(2):181-90.
  - 33) Ramamoorthy, S., Bauman, A.L., Moore, K.R., Han, H., Yang-Feng, T., Chang, A.S., Ganapathy, V., Blakely, R.D., 1993. Antidepressant- and cocaine-sensitive human serotonin transporter: molecular cloning, expression, and chromosomal localization. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 15;90(6):2542-6.
  - 34) Reisner, I.R., Mann, J.J., Stanley, M., Huang, Y.Y., Houpt, K.A., 1996. Comparison of cerebrospinal fluid monoamine metabolite levels in dominant-aggressive and non-aggressive dogs. *Brain Res.* 714(1-2):57-64.
  - 35) Reisner, I.R., 2004 in: *Terapia comportamentale del cane e del gatto.* D.S. Mills, D.F. Horwitz, S. Heath, a cura di AISEAB: UTET Torino.
  - 36) Riva J, Bondiolotti G, Michelazzi M, Verga M, Carenzi C, 2008. Anxiety related behavioural disorders and neurotransmitters in dogs. *Applied Animal Behaviour Science* 114 (2008) 168–181.
  - 37) Roche, B.M., Schwartz, D., Lehnhard, R.A., McKeever, K.H., Nakayama, T., Kirby, T.E., Robitaille, P.M., Hamlin, R.L., 2002. Changes in concentrations of neuroendocrine hormones and catecholamines in dogs with myocardial failure induced by rapid ventricular pacing. *Am J Vet Res.* Oct;63(10):1413-7.
  - 38) Rudolph U, Crestani F, Benke D, Brunig I, Benson JA, Fritschy JM, Martin JR, Bluethmann H and Mohler H, 1999. Benzodiazepine actions mediated by specific  $\gamma$ -aminobutyric acid<sub>A</sub> recertor subtypes. *Nature (London)* 401: 796-800.
  - 39) Seguin, L., Liscia, P., Guezennec, Y., Fillion, G., 1998. Effects of moderate and intensive training on functional activity of central 5-HT<sub>1B</sub> receptors in the rat substantia nigra. *Acta Physiol. Scand.* 162, 63-68.
  - 40) Sheard M.H., 1984. Clinical Pharmacology of aggressive behaviour, *Clinical Neuropharmacology*: 7, 173-183.
  - 41) Somogyi P, Tamas G, Lujan R, and Buhl EH, 1998. Salient features of synaptic organisation in the cerebral cortex. *Brain Research Review.* 26 (2-3): 113-135.
  - 42) Soubrie P., 1986. Serotonergic neurons and behaviour. *J Pharmacol.* 17(2):107-12.
  - 43) Stahl S.M., *Essential Psychopharmacology, 1999: Neuroscientific Basis and Practical Applications.* Cambridge University Press.
  - 44) Wilson, W., Marsden, C., 1994. The effect of running on brain serotonin. In: Louilot, A., Durkin, T., Spampinato, U., Cador, M., (Ed.), *Monitoring molecule in neuro science.* Gardignan: Publy Typ. Pp. 223-224.
  - 45) Valzelli, L., Bernasconi, S., 1979. Aggressiveness by isolation and brain serotonin turnover changes in different strains of mice. *Neuropsychobiology.* 5(3):129-35.



# LA TERMOGRAFIA NELLE RICERCHE SU COMPORTAMENTO E FISIOLOGIA DEGLI ANIMALI DA AFFEZIONE

V. REDAELLI<sup>1</sup> - M. VERGA<sup>2</sup> - F. LUZI<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Scienze Animali - Università degli Studi di Milano

<sup>2</sup> Vetogene - Spin Off dell'Università degli Studi di Milano

## INTRODUZIONE

La termografia è una tecnica moderna, innovativa e non invasiva che permette di visualizzare il profilo termico di un corpo senza necessità di contatto fisico con esso (Yang & Yang, 1992; Spruyt *et al.*, 1995; Speakman & Guard, 1998). Diversi articoli presenti nella bibliografia internazionale, testimoniano il particolare interesse esistente nei confronti dello sviluppo in ambito zootecnico di un sistema di misurazione delle temperature a distanza; tali ricerche propongono confronti tra sistemi di misura basati sull'infrarosso e sistemi convenzionali o con *transponder* sottocutanei, sia su animali da laboratorio (Devalle 2005), sia di interesse zootecnico, quali pecore e cavalli (Goodwin 1998). La termografia è stata inoltre applicata per valutare la risposta allo stress in alcune ricerche sulla specie cunicola (Ludwig *et al.*, 2007), per verificare i cambiamenti nella circolazione sanguigna che possono causare variazioni della temperatura superficiale (Harper, 2000); attualmente è utilizzata per la diagnostica delle infiammazioni agli arti dei cavalli (Denoix, 1994; Embaby *et al.*, 2002) e sembra essere di fondamentale importanza per la diagnostica precoce delle mastiti (Stewart *et al.* 2005).

I principali problemi nella misurazione di tali temperature con i metodi attuali, sono associati alla difficoltà di registrare i dati senza indurre ulteriori stress dovuti alla manipolazione degli animali da parte dell'uomo.

Per quanto riguarda lo stato della ricerca in Italia in questo ambito, il Dipartimento di Scienze Animali dell'Università degli Studi di Milano sta sviluppando già da alcuni anni diversi protocolli di ricerca con particolare attenzione alle metodiche non invasive che permettono una misura oggettiva delle condizioni di stress e dello stato di benessere negli animali da reddito e da affezione. Tra queste è stata sviluppata particolarmente la tecnica termografica, con la formazione di un gruppo di lavoro dedicato e l'acquisto di strumentazione all'avanguardia. In particolare si sta cercando di mettere a punto un sistema di misurazione a distanza mediante termografia della temperatura periferica di animali, sia da reddito sia da affezione, al fine di ottenere una valutazione oggettiva di eventuali condizioni di stress e/o malessere, in relazione al loro stato sanitario e alle condizioni ambientali.



Fig. 1: Immagine termografica della testa di un cucciolo di pastore tedesco (Dipartimento di Scienze Animali – Milano, 2010)

## LA TECNICA TERMOGRAFICA

La termografia, o termovisione, è un sistema di indagine non invasivo, semplice e preciso che fornisce in tempo reale immagini nell'infrarosso di qualsiasi oggetto opaco a tale radia-

zione, consentendo la misura a distanza della temperatura superficiale dello stesso. Le immagini sono solitamente rappresentate in scale di falsi colori, nelle quali ad ogni colore corrisponde una determinata temperatura e non il colore reale dell'oggetto (Fig.1).

In particolare, la radiazione infrarossa copre quella parte dello spettro elettromagnetico di lunghezza d'onda compresa tra 0,75  $\mu\text{m}$  e 1000  $\mu\text{m}$  (Fig.2) ed è spontaneamente emessa da tutti i corpi con temperatura superiore allo zero assoluto. Le lampade a incandescenza, per esempio, producono radiazione nel visibile e nel vicino infrarosso; il sole invece è assimilabile a una grande sfera di gas surriscaldati, la cui superficie esterna ha una temperatura di circa 6000 Kelvin, che corrisponde all'illuminazione diurna di cui godiamo sulla Terra. Infine, anche i corpi più freddi emettono radiazione, che però non è visibile all'occhio umano; in particolare, tutti gli oggetti a temperatura ambiente, circa 300 Kelvin, emettono la loro energia in una banda dello spettro elettromagnetico detta lontano infrarosso ( $\lambda$  tra 8  $\mu\text{m}$  e 14  $\mu\text{m}$ ).

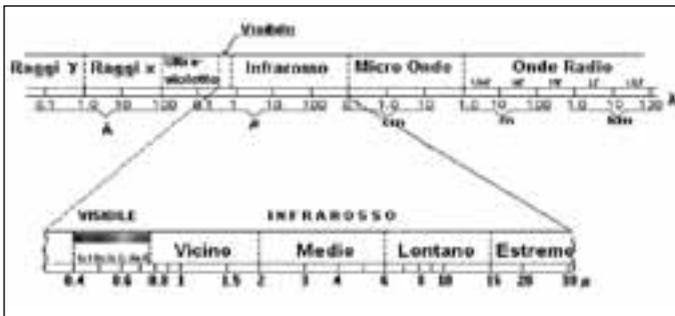


Fig.2: Spettro elettromagnetico (Dipartimento di Fisica – Milano, 2007)

Intensità e frequenza della radiazione emessa sono strettamente legate alla temperatura della sorgente e le leggi che ne governano l'emissione sono perfettamente note. In particolare, è sufficiente rilevare il contenuto di emissione per una banda di lunghezza d'onda prescelta per poter risalire, tramite le leggi di Wien e Stefan-Boltzman riportate qui di seguito, alla temperatura del corpo da cui la radiazione proviene:

$$E = \text{costante } T^4$$

$$\lambda_{\text{max}} T = \text{costante}$$

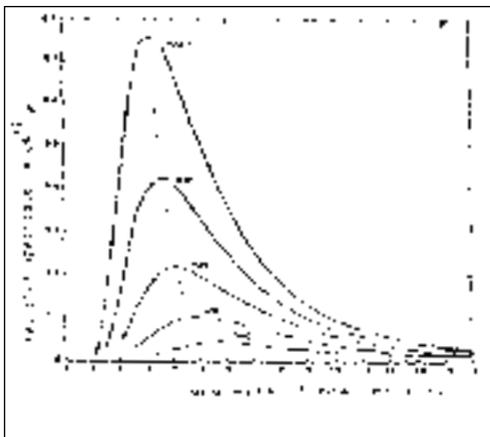


Fig. 3: Curve di emissione spettrale per corpi neri a diverse temperature, (Dipartimento di Fisica – Milano, 2007)

In Fig. 3 è riportato il grafico che rappresenta l'intensità di energia al variare della lunghezza d'onda emessa da corpi a differente temperatura, detti spettri di emissione di corpo nero. Si può notare che il picco di massima emissione (corrispondente al massimo di ogni curva) non è posizionato sempre alla stessa lunghezza d'onda ma, all'aumentare della temperatura, si sposta verso la sinistra del grafico, cioè verso lunghezze d'onda più corte. Quindi, un materiale surriscaldato a circa 3000 K ha un massimo di emissione nella zona del vicino infrarosso a 1 micrometro, mentre oggetti a temperatura ambiente (intorno a 300 K) hanno il corrispondente picco di emissione a 10 micrometri, cioè nel lontano infrarosso.

Utilizzando questo procedimento, le termocamere moderne forniscono in tempo reale un'immagine termica della scena ripresa così accurata (+/- centesimi di grado) da poter scorgere i più piccoli particolari.

La termocamera è molto simile ad una telecamera (Fig.4) dotata, però, di ottiche per infrarosso al posto degli elementi ottici comunemente usati per riprese nel visibile; infatti, le ottiche in vetro non sono adatte allo scopo poiché hanno un'elevata assorbanza nelle lunghezze d'onda tipiche dell'infrarosso; al contrario, viene generalmente usato il germanio.

Peculiarità della tecnica termografica è la rappresentazione dei risultati in forma di immagini digitali, cioè in forma di mappa termica, successivamente modificabile secondo le esigenze mediante l'uso di programmi di elaborazione dell'immagine. Un'immagine in infrarosso termico è rappresentata all'origine in toni di grigio, corrispondenti alle diverse intensità di radiazione provenienti dai diversi punti dell'oggetto inquadrato; le rappresentazioni in "falsi colori" che si ottengono associando a ogni livello di grigio un determinato colore, sono artifici che servono a meglio evidenziare taluni fenomeni svincolati dal reale aspetto dell'animale inquadrato. A titolo di esempio, in Fig. 5 è rappresentata la termografia di un coniglio: sulla destra dell'immagine una scala di colori e di temperature permette di associare ai diversi colori la rispettiva temperatura. Il fondo è viola perché caratterizzato da una temperatura prossima a 26°C, come riportato nella scala; la pelliccia del coniglio appare con una temperatura di poco superiore a quella dell'ambiente circostante, a testimonianza del suo isolamento termico che non permette al calore di uscire dal corpo. Alcune parti, quali naso, orecchie e occhi, privi di pelo, sono le uniche zone nelle quali appare possibile leggere correttamente la temperatura dell'animale; in particolare nell'orecchio e nell'occhio sono individuabili i dettagli anatomici dovuti alla diversa irrorazione sanguigna.

Non è possibile, in linea di massima, associare in modo univoco a un colore dell'immagine termografica una determinata patologia: è solo nel contesto di una più generale anamnesi della patologia o dello stato dell'animale che la presenza di una 'anomalia termica può essere collegata al corretto fenomeno fisiologico. Scopo delle tecniche d'indagine termografica è proprio quello di ottimizzare le condizioni di osservazione per visualizzare al meglio queste anomalie. Le tecniche d'ispezione termografica si distinguono in passive e attive; nel primo caso la misura riguarda la temperatura assunta dai corpi considerati come sistemi isolati rispetto all'ambiente circostante. La termografia attiva invece, prende in considerazione la temperatura raggiunta dai corpi per effetto di una fonte di riscaldamento o raffreddamento esterna, per osservarne in seguito il ritorno alle condizioni di normalità. L'elaborazione di sequenze dinamiche di immagini termiche con appositi algoritmi, consente di ottenere informazioni che la singola termografia passiva non potrebbe evidenziare. Ogni specie animale, inoltre, presenta delle problematiche tecniche peculiari, dovute alla tipologia dei soggetti (dimensioni, presenza di pelliccia, caratteristiche comportamentali, tipo di stabulazione, etc.), che possono condizionare la buona riuscita delle misure e che non permettono la definizione di una *tecnica operativa standard* utilizzabile in tutti i casi; spesso, solo l'esperienza e la conoscenza della specie in analisi permettono di individuare le soluzioni migliori e adattare il metodo alle specifiche necessità.



Fig. 4: Termocamera AVIO TVS500 (Inprotec Spa – Cinisello Balsamo)

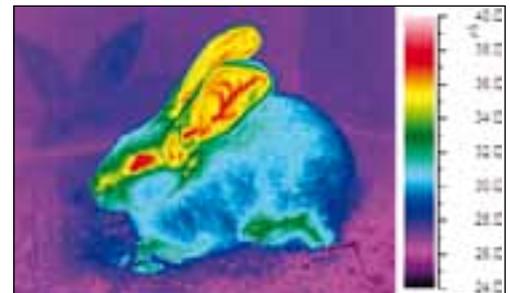


Fig. 5: Immagine termografica di un coniglio (Dipartimento di Scienze Animali - Università degli Studi di Milano, 2007)

## APPLICAZIONI IN CAMPO BIOMEDICO

In ambito biomedico l'applicazione della termografia a infrarossi è relativamente recente; essa è considerata una metodica di *imaging* non invasiva, in quanto non causa alcun danno né al paziente né all'operatore poiché non utilizza sostanze radioattive, ultrasuoni o radiazioni penetranti. La termografia fornisce informazioni sulla localizzazione dell'area patologica e informazioni di carattere fisiologico, ma in genere non anatomico, e non è in grado di fornire informazioni sull'eziologia della patologia in esame. Essa può però fornire un'immagine dinamica in tempo reale dell'area indagata, rilevandone i cambiamenti nel corso del tempo. Le patologie per le quali la tecnica termografica si rivela particolarmente utile sono soprattutto quelle che portano ad alterazioni nel controllo della temperatura corporea, come ad esempio variazioni del microcircolo, infiammazioni, traumi, flogosi, alterazioni del metabolismo e dei sistemi di termoregolazione. È una tecnica con notevoli potenzialità soprattutto dove sono disponibili modelli fisico-matematici dei processi termici dell'organismo. È inoltre particolarmente utile nel controllo della risposta ad alcune terapie senza interferire con esse.

Ad oggi sono stati condotti studi principalmente nel campo degli animali da reddito (Berry *et al.*, 2003; Knizkova *et al.*, 2002, 2007; Scott *et al.*, 2000; Xin, 1999; Gerken e Barow, 1998; Tong *et al.*, 1995) e dell'ippatria (Eddy, 2001; Weil, 1998; Turner, 1991). Negli ultimi anni sta crescendo inoltre l'utilizzo degli infrarossi da parte degli zoologi, sia nella banda del vicino infrarosso che di quello lontano, per osservare gli animali anche durante gli spostamenti notturni e per effettuarne il censimento nei parchi nazionali. Un aspetto importante di questa tecnica che ha un forte impatto sul benessere dell'animale, è il suo carattere preventivo: essa è in grado di evidenziare alterazioni che non hanno ancora dato segni clinici in soggetti apparentemente sani. Ad esempio, è in grado di evidenziare la presenza di una maggiore irrorazione sanguigna nel caso delle infiammazioni subcliniche, oppure la presenza di atrofia prima che diventino clinicamente evidenti. Questa caratteristica è molto utile nel caso degli stati infiammatori a carico del piede in bovini ed equini, dove spesso la zoppia non è associata a un solo problema, ma è dovuta a un insieme di concause e crea effetti secondari, ad esempio asimmetrie e affaticamento di alcune fasce muscolari (Schaefer *et al.*, 2003; Harper, 2000; Spire *et al.*, 1999). Particolarmente

interessante è la possibilità di utilizzare la termocamera per monitorare l'andamento della temperatura cutanea degli animali durante il trasporto, verificandone l'adattamento a una condizione considerata molto stressante; già dalla fine degli anni ottanta, Schaefer studiò lo stress durante il trasporto di capi bovini e suini: in caso di stress le catecolamine e il cortisolo aumentano la loro concentrazione ematica e ne risulta una risposta metabolica e vasomotoria (generalmente un incremento della temperatura interna e una vasocostrizione periferica) che può essere rilevata tramite la termografia (Schaefer, 1989; Stewart, 2005; Blessing e Seaman, 2003; Vianna e Carriave, 2005). Per quanto riguarda la possibilità di utilizzare la termografia per il controllo di eventuali condizioni di stress, alcune prove sono state eseguite

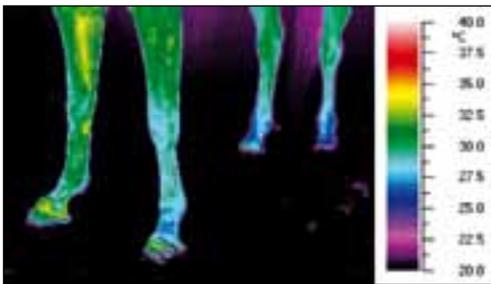


Fig. 6: Immagine termografica degli arti di un cavallo: è visibile una infiammazione all'anteriore destro (Dipartimento di Scienze Animali - Università degli Studi di Milano, 2009)

anche sulla specie cunicola (Ludwig *et al.*, 2007). Inoltre, il metodo termografico è risultato efficace anche in applicazioni più specifiche come la ricerca di sostanze e di pratiche proibite, oppure per la diagnosi precoce delle piaghe da gesso, delle dermatiti e delle flogosi (Fig. 6) (Kraft e Roberts, 2001; Okumus e Yanmaz, 2007).

## SPERIMENTAZIONI RECENTI NELL' AMBITO DEGLI ANIMALI DA AFFEZIONE

In una recente sperimentazione (Redaelli, 2010) è stata verificata la possibilità di utilizzare la tecnica termografica per valutare lo stato di benessere in cani per la ricerca di stupefacenti, in relazione alle caratteristiche comportamentali e fisiologiche dei soggetti; è stata inoltre testata la possibilità di rilevare i valori di temperatura cutanea in modo continuativo mediante videotermografia durante test comportamentali, senza interferire con il comportamento dell'animale.

Infatti, la possibilità di mettere a punto sistemi oggettivi e non invasivi per la valutazione in età precoce delle tendenze reattive dei soggetti da destinarsi all'addestramento, costituisce un obiettivo prioritario per ottimizzare le risorse e migliorare le possibilità di successo nell'addestramento.

Attualmente, nello studio del temperamento/reattività in campo animale, i test comportamentali sono un approccio comune; nello studio della variabilità comportamentale, il rilevamento e la quantificazione di neurotrasmettitori, relazionabili alla manifestazione di stress e importanti nel determinare le caratteristiche di reattività dei soggetti studiati, è in genere effettuato attraverso l'utilizzo di HPLC (High-Performance Liquid Chromatography) che può essere considerata una delle tecniche più attuali ed efficaci nel rilevamento e nella quantificazione dei composti organici (Bellei, 2008).

I rilievi in oggetto sono stati effettuati presso il Centro di Allevamento ed Addestramento per cani antidroga della Guardia di Finanza a Castiglione del Lago (Pg) durante quattro prove distinte, svoltesi tra l'autunno 2007 e l'estate 2010 e riguardanti una ventina di soggetti, sia Pastori Tedeschi che Labrador Retriever con età compresa tra 12 e 24 mesi, per ciascuna prova.

Gli animali sono stati sottoposti ad un rilievo termografico contestualmente al prelievo ematico effettuato per valutare la concentrazione di neurotrasmettitori circolanti.

In seguito, gli stessi animali sono stati sottoposti a un test di Attitudini Naturali per la valutazione delle loro caratteristiche comportamentali, modificato per la sperimentazione in oggetto da quello originale stilato dal gruppo di ricerca svedese avente come referente il Prof. Svartberg (Svartberg, 2005); sono stati valutati differenti aspetti comportamentali, quali socialità, curiosità, etc. . Durante lo svolgimento dei test, i soggetti sono stati ripresi utilizzando una termocamera AVIO TVS500 in modo da ottenere i valori della temperatura cutanea degli animali mentre erano in continuo movimento, lavorando a distanza e senza interferire con lo svolgimento del test.

I rilievi non sono stati effettuati all'aperto, ma in strutture coperte ed è stata prestata particolare attenzione alla zona perioculare, a quella auricolare e alla bocca degli animali; alcuni esempi delle immagini ottenute sono riportati nelle Figg. 7-8.

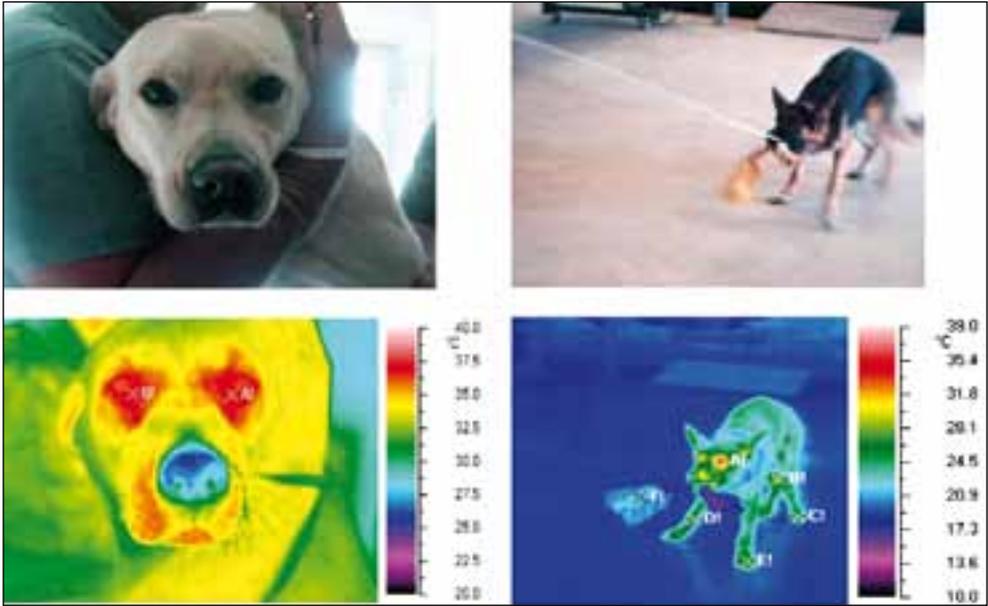


Fig. 7 e 8: Immagini visibili e termografiche di due soggetti, ottenute durante il prelievo ematico e durante una fase del test comportamentale (Dipartimento di Scienze Animali – Università degli Studi di Milano, 2008-2010)

SEX	t LSMEAN	Standard Error	Pr >  t
F	37.267	0.199	<.0001
M	37.915	0.148	<.0001

Fig. 9: Risultati dell'analisi statistica; le temperature medie ottenute per maschi e femmine sono significativamente diverse

L'analisi statistica dei risultati ottenuti mediante un modello lineare generale misto, ha permesso di verificare la presenza di differenze significative tra i sessi (differenza di  $0.6^{\circ}\text{C}\pm 0.2^{\circ}\text{C}$ ), non sono risultate significative le differenze tra le diverse prove e tra le aree di rilevazione della temperatura (orecchio, occhio, bocca). Le temperature medie ottenute per i due sessi sono riportate nella tabella seguente.

Per quanto riguarda le variabili comportamentali, sono state ottenute relazioni statisticamente signifi-

cative tra le temperature rilevate e alcune variabili comportamentali, in particolare quelle relative al contatto sociale, alla cooperazione e alle reazioni di spavento e evitamento.

Le differenze riscontrate potrebbero essere legate alle differenze di concentrazione di alcuni neurotrasmettitori (in particolare la Ldopa plasmatica), ma sembrano comunque necessarie ulteriori indagini più approfondite per confermare i risultati ottenuti e per valutare meglio la complessa struttura della relazione tra comportamento e neurotrasmettitori.

Risultati analoghi sono stati ottenuti in una sperimentazione svoltasi nella specie equina su un campione più ridotto di soggetti, nella quale è stata valutata la validità della termografia quale potenziale indicatore non invasivo di stress. I rilevamenti sono stati effettuati tra ottobre e novembre 2009 su 15 cavalli di razza eterogenea ed età compresa tra 1 e 17 anni, presso la struttura dell'Ospedale Veterinario di Lodi. Utilizzando una termocamera TVS500 sono state realizzati rilievi termografici in corrispondenza dell'area della caruncola lacrimale e della zona perineale degli animali. Inoltre, la realizzazione di una scheda comportamentale per

ogni soggetto ha permesso di suddividere gli animali in due classi, a seconda che fossero stati considerati 'normalmente reattivi' oppure 'altamente reattivi', in base alla presenza di stereotipie e alle reazioni del soggetto ad alcuni eventi standardizzati.

Anche in questo caso i dati termografici rilevati nelle diverse sedi (occhio destro, occhio sinistro, perineo) sono risultati significativamente correlati e, come riportato in Fig. 10, la temperatura rilevata sia a livello della caruncola che del perineo è risultata significativamente diversa nei soggetti giudicati altamente reattivi, rispetto agli altri; questo risultato sembrerebbe indicare effettivamente la presenza di una vasocostrizione periferica probabilmente dipendente da un'attività del sistema nervoso simpatico, che potrebbe essere legata alla presenza di condizioni stressanti. È da tenersi però presente la bassa numerosità del campione, infatti i soggetti giudicabili altamente reattivi erano solamente 3.

Per quanto riguarda la diagnostica clinica dei piccoli animali, l'utilità della termocamera come supporto nella diagnosi di patologie del cane e del gatto è stata verificata in una recente ricerca svoltasi presso le Cliniche della Facoltà di Medicina Veterinaria di Milano, su un campione di 110 soggetti, giunti da settembre 2009 a ottobre 2010 per eseguire visite od interventi nei dipartimenti di Radiologia, Clinica Ostetrica, Clinica Medica e Clinica Chirurgica.

In tale ambito si sono evidenziati i vantaggi della tecnica termografica, quali la completa non invasività e la maneggevolezza dell'attrezzatura, che hanno dato la possibilità di avere informazioni preliminari a distanza anche su soggetti poco collaborativi per carattere, o addirittura aggressivi per dolore o paura.

Le principali difficoltà riportate hanno riguardato la realizzazione pratica da parte dell'operatore di immagini corrette, in particolare per quanto riguarda la messa a fuoco, quando l'animale è libero e in movimento. Inoltre, è risultato spesso difficile effettuare riprese da diverse angolazioni: anche in caso di sedazione o anestesia, ad esempio, non è stato chiaramente possibile indagare il lato del soggetto appoggiato sul tavolo della sala chirurgica, della sala TC, o della Radiologia.

Si è rilevata poi importante in questo ambito la sensibilità della tecnica alle condizioni che alterano la lettura della temperatura, in particolar modo nei soggetti a pelo medio e lungo, dove, pur essendo presenti patologie, esse possono non essere termograficamente rilevabili a causa del suo spessore, a meno che non siano localizzate in zone glabre, come occhio, naso, cavità orale, padiglione auricolare e zona anale. Anche sostanze più o meno estranee all'animale, quali l'urina e l'alcool che il veterinario usa per la disinfezione della cute, si sono rivelate fonte di errore nell'interpretazione delle immagini ottenute. Lo stesso veterinario, se visita l'animale toccando la cute con le mani calde prima del rilievo termografico può alterarne temporaneamente la condizione termica creando falsi segnali.

Alcune immagini ottenute sono riportate come esempio nelle Figg. 11 e 12.

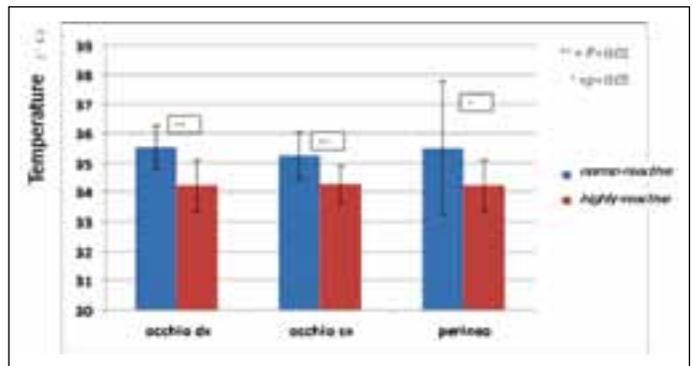
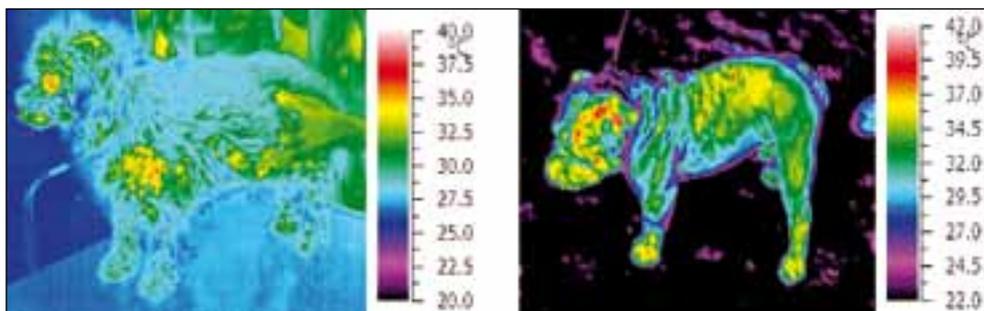


Fig. 10: Grafico dei i valori di temperatura superficiale rilevati separati per soggetti normalmente reattivi e altamente reattivi (Redaelli et al. 2010)



*Fig.11 e 12. Immagini termografiche relative a dermatite digitale in un barboncino e in un bulldog: l'alterazione è visibile solo nel bulldog perchè nel barboncino l'aumento di temperatura della zona è schermato dallo spessore del pelo. Il tocco delle mani del veterinario altera la distribuzione termica creando degli spot caldi (Dipartimento di Scienze Animali – Università degli Studi di Milano, 2010)*

Confermando che con la termocamera in genere non si possono valutare patologie riguardanti gli organi interni, essendo la tecnica per sua natura limitata ai primi centimetri di spessore, sono stati ottenuti buoni risultati in caso di flogosi, necrosi e neoplasie riguardanti cute e arti. In particolare, le zone calde sono state clinicamente associate a flogosi, aumento della circolazione locale e del tasso metabolico, mentre le zone fredde sono state associate a ipoperfusione, ischemia, infarto, necrosi.

## CONCLUSIONI

Nell'ambito delle indagini sugli animali, la rapidità d'uso, l'elevata risoluzione termica della strumentazione (superiore al decimo di grado) e la possibilità d'impiego in modo totalmente non invasivo, fanno della termografia una tecnica molto promettente. Tuttavia, poiché il dato rilevato, cioè la temperatura, è riferito alla parte più esterna dell'animale (pelle, pelo, piume o pelliccia), al di là dell'identificazione delle infiammazioni superficiali essa non costituisce di per sé un dato significativo dal punto di vista diagnostico, ma va interpretata alla luce dei fenomeni fisici e fisiologici che la determinano e che siano in qualche modo correlabili alle patologie o agli stati psicofisici dell'animale. È inoltre necessario tenere conto di tutti quei fattori di disturbo che potrebbero alterare la risposta termica, quali pelliccia, sporco, umidità, nonché del fatto che il continuo movimento degli animali, soprattutto nel caso delle specie da affezione, mette spesso alla prova la pazienza dell'operatore termografico; per risolvere questo problema sembra molto utile l'utilizzo del video termografico, invece del rilievo di singole immagini. Un altro aspetto della tecnica termografica che riteniamo importante è stata la sua capacità di fornire informazioni di carattere fisiologico, che in genere non sono ottenibili altrimenti; essa può infatti fornire un'immagine dinamica in tempo reale della parte in esame, rilevandone i cambiamenti nel corso del tempo, anche se non è in grado di fornire informazioni ad esempio sull'eziologia della patologia in esame o anatomiche.

In particolare, per quanto riguarda la possibilità di utilizzare la termografia per il controllo di eventuali condizioni di stress, la zona più adatta al rilievo della temperatura si è dimostrata essere l'area periculare; nel corso di misure effettuate per la specie equina, è stata effettivamente verificata la presenza di fenomeni di vasocostrizione periferica che hanno portato ad una diminuzione della temperatura cutanea in soggetti giudicati stressati. Inoltre, le relazio-

ni individuate nella specie canina tra le temperature rilevate e alcune variabili comportamentali, fanno bene sperare per un effettivo impiego della tecnica per la valutazione non invasiva dello stato di benessere dell'animale. I risultati ottenuti nelle sperimentazioni qui riportate forniscono una ragionevole aspettativa sulla possibilità di utilizzare effettivamente questo metodo in condizioni di controlli di *routine*, ma, poiché le variazioni di temperatura rilevate nel caso delle sperimentazioni relative a condizioni di stress risultano, in genere, inferiori al grado centigrado, sono fondamentali in questo ambito le caratteristiche *del set up* sperimentale e delle procedure utilizzate, al fine di garantire il grado di precisione necessario durante le misure. Non è inoltre da sottovalutare la presenza di un certo grado di variabilità, imputabile sia alla variabilità individuale degli animali, sia a reazioni immediate generate da stimoli ambientali improvvisi non controllabili (se non nelle rigide condizioni di un laboratorio), sia al continuo movimento dell'animale.

## BIBLIOGRAFIA

- 1) Bellei C. (2008). Il cane antidroga: reattività comportamentale e neurotrasmettitori. Tesi del Corso di Laurea in Biotecnologie Veterinarie, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Milano.
- 2) Berry, R.J., Kennedy, A.D., Scott, S.L., Kyle, B.I. and Schaefer, A.L. (2003) Daily variation in the udder surface temperature of dairy cows measured by infrared thermography: potential for mastitis detection. *Can. J. Anim. Sci.* 83, 687 – 93.
- 3) Blessing, W.W., Seaman, B. (2003) 5-Hydroxytryptamine<sub>2A</sub> receptors regulate sympathetic nerves constricting the cutaneous vascular bed in rabbits and rats. *Neuroscience*, 117: 939-948. Published by Elsevier Science Ltd.
- 4) Denoix J.M., (1994). Diagnostic techniques for identification and documentation of tendon and ligament injuries: *Veterinary Clinics of North America: Equine Pract.*, 2:365-407.
- 5) Devalle J.M.S., (2005). Comparison of Tympanic, Transponder, and Noncontact Infrared Laser Thermometry with Rectal Thermometry in Strain 13 Guinea Pig (*Cavia porcellus*). *Contemporary Topics* (44),5:35-38.
- 6) Eddy, A.L., van Hoogmoed, L.M. and Snyder, J.R. (2001) The role of thermography in the management of equine lameness. *The Veterinary Journal*, 162(3); 172-181.
- 7) Embaby S., Shamaa A.A., Gohar H.M., (2002). Clinical assessment of thermography as a diagnostic and prognostic tool in horse practice. In: *Proc. Inflammation 2002*, Orlando, U.S.A., 30-36.
- 8) Gerken, M. and Barow, U. (1998) Methodical investigation into thermoregulation in suckler cows under field conditions. In: *Proc. 49th Annual Meeting of EAAP*, Warsaw, Poland. Vol un.:179.
- 9) Goodwin D, (1998). Comparison of body temperatures of goats, horses, and sheep measured with a tympanic infrared thermometer, an implantable microchip transponder, and a rectal thermometer. *Contemp Top Lab Anim Sci*, 37(3): 51–55.
- 10) Harper, D.L. (2000) The value of infrared thermography in a diagnosis and prognosis of injuries in animals. *Proc. Inflammation*, Orlando, USA. Vol. un.:115-122.
- 11) Knizkova, I., Kunc, P., Koubkova, M., Flusser, J and Dolezal, O. (2002) Evaluation of naturally ventilated dairy barn management by a thermographic method. *Livest. Prod. Sci.*, 77:349-353.
- 12) Knizkova, I., Kunc, P., Guzdil, G.A.K., Pinar, Y. and Selvi K.C. (2007) Applications of infrared thermography in animal production. *J. of Fac. Agric., Omu*, 22(3):329-336.
- 13) Kraft SL, Roberts GD, (2001) Modern diagnostic imaging. *Veterinary Clinics of North America: equine practice*, 17(1); 93-113.

- 14) Ludwig, N., Gargano, M., Luzi, F., Carezzi, C. and Verga, M. (2007) Applicability of infrared thermography as a non invasive measurement of stress in rabbits. *World Rabbit Science*, ISSN 1257-5011, 15(4).
- 15) Okumus Z, Yanmaz LE, (2007) Instrumentation of thermography and its applications in horses. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 6(7); 858-862.
- 16) Redaelli, V. (2010). Utilizzo della tecnica termografica come sistema non invasivo per lo studio del benessere e dello stato sanitario nelle specie animali di interesse zootecnico e da affezione. Tesi di dottorato. Università degli Studi di Milano.
- 17) Redaelli, V., F. Luzi, E. Chiminelli, F. Ferrucci, M. Verga, C. Carezzi (2010) Utilizzo della tecnica termografica in ippiatra: principi e applicazioni. *Veterinaria Pratica Equina, Point Veterinaire Ed. in press*.
- 18) Schaefer, A.L., Jones, S.D.M., Murray, A.C., Sather, A.P. and Tong, A.K.W. (1989) Infrared thermography of pigs with known genotypes for stress susceptibility in relation to pork quality. *Can. J. Anim. Sci.*, 69: 491-495.
- 19) Schaefer, A.L., Cook, N., Tessaro, S.V., Dereg, D., Desroches, G. and Godsson, D.L. (2003) Early detection and prediction of infection using infrared thermography. *Can. J. Anim. Sci.*, 84:73-80.
- 20) Scott, S.L., Schaefer, A.L., Tong, A.K.W. and Lacasse, P. (2000) Use of infrared thermography or early detection of mastitis in dairy cows. *Can. J. Anim. Sci.*, 70: 764 – 5.
- 21) Speakmen, J.R. and Ward, S. (1998) Infrared thermography: Principle and applications. *Zoology*, 101:224-232.
- 22) Spire, M.F., Drauillard, J.S., Galland, J.C. and Sargeant, J.M. (1999) Use of IR to detect inflammation caused by contaminated growth promotant ear implants in cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 215:1320-1324.
- 23) Spruyt P., Ghafir Y., Lekeux, (1995). Infrared thermography in the study of thermoregulation: bibliographic study. *Annales de Medicine Veterinaire (Belgium)*. Vol. 139(6):413-418.
- 24) Stewart, M., Webster, J.R., Schaefer, A.L., Cook, N.J. and Scott, S.L. (2005) Infrared thermography as a non-invasive tool to study animal welfare. *Animal Welfare*, 14: 319 -25.
- 25) Svartberg, K., (2005). A comparison of behaviour in test and in everyday life: evidence of three consistent boldness-related personality traits in dogs. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 91, 103–128.
- 26) Tong, A.K.W., Schaefer, A.L., Cook, N.J. and Scott, S.L. (1995) Detection of poor quality beef using infrared thermography. *Meat Focus International*, 4:443-445.
- 27) Turner, T.A. (1991) Thermography as an aid to the clinical lameness evaluation. *Veterinary Clinics of North America: equine practice*, 7(2); 311-338.
- 28) Vianna, D.M.L. and Carrive, P. (2005) Changes in cutaneous and body temperature during and after conditioned fear to context in the rat. *Proc. Aust. Neuroscience Soc.*, 21:2505-2512.
- 29) Weil, M., Litzke, L.F. and Fritsch, R. (1998) Diagnostic validity of thermography of lameness in horse. *Tierarztl. Prax. Ausg G Grosstiere Nutztiere*, 26, 346 – 54.
- 30) Xin, H. (1999) Assessing swine thermal comfort by image analysis of postural behaviours. *J. Anim. Sci.*, 77, Suppl.2/*J. Dairy Sci.*, 82, Suppl.2:1-9.
- 31) Yang, W. and Yang P.P.T. (1992) Literature survey on biomedical applications of thermography. *Bio-medical materials and Engineering*, 2:7-18.

## AGGIORNAMENTI SULLA GENETICA COMPORIMENTALE CANINA

K. L. OVERALL

Medico veterinario, Phd, M.A.

Diplomate American College of Veterinary Behaviorists, ABS Certified Applied Animal Behaviorist

Editor-in-Chief of Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research - U.S.A.

### PRINCIPI GENERALI ALLA BASE DEI PROCESSI EVOLUTIVI

La selezione artificiale in funzione dell'aspetto e dell'attitudine al lavoro, che si è verificata nel corso di molte centinaia di anni, ha portato ad una variabilità nella dimensione, nell'aspetto e nel comportamento nei cani domestici, che è superiore alla selezione naturale nei lupi, avvenuta nel corso di migliaia di anni (Sutter et al., 2007; Wayne, 1993, 2001; Wayne et al., 2001). La storia dei cani è una storia di lavoro collaborativo con l'uomo. I cani condividono con l'uomo sia la modalità di ricerca del cibo che il sistema sociale, che risulta virtualmente identico. I cani rispecchiano inoltre gli uomini negli elementi caratteristici dello sviluppo sociale (Overall, 1997). Queste analogie sono il risultato di una coevoluzione del lavoro collaborativo con gli uomini in atto da 15,000-150,000 anni, a seconda delle differenti valutazioni e ipotesi prese in considerazione (Savolainen et al., 2002). Nel corso degli ultimi 12,000-15,000 anni si è verificata un'intensa selezione per caratteri comportamentali specifici (ad es. lo sviluppo delle razze) (Vonholdt et al., 2010).

Le modalità di comunicazione reciproca, in atto tra cani e uomini, nonché i tipi di problemi comportamentali che possono svilupparsi nel cane, sono stati influenzati dalla singolare, stretta, relazione di lavoro condivisa dai cani e dagli uomini. Tutte le razze condividono delle caratteristiche con gli uomini, tali da aver reso i cani compatibili con il lavoro congiunto e con le relazioni sociali: le cure parentali sono prolungate ed attente, diversi membri della famiglia contribuiscono alla cura ed allo sviluppo sociale della prole, diventano socialmente maturi dopo il raggiungimento della maturità sessuale, i sistemi sociali si basano sulla deferenza e sulle regole che la governano, cosicché la comunicazione risulta spesso ridondante e la maggior parte di questa è di tipo non vocale piuttosto che vocale (Overall, 1997).

La variazione fisica, avvenuta nelle razze canine, è in larga parte una conseguenza dell'evidente selezione volta ad evidenziare comportamenti specifici (ad es. i mantelli sono il risultato derivante da comportamenti legati alla caccia rispetto al riporto e dai pattern comportamentali che sono diversi in base al compito da svolgere, quali la custodia del gregge o il riporto). La storia del lavoro e dei relativi comportamenti associati dei cani domestici attuali si evidenzia sia nelle tradizionali classificazioni, operate dai vari circoli cinofili, sia dalle analisi dei cluster che hanno utilizzato le informazioni genetiche ottenute da razze rappresentative (Parker et al., 2004; Parker and Ostrander, 2005).

I dati recenti indicano che i cani sono paragonabili agli uomini nella complessa percezione sociale implicata nel comprendere i segnali a lunga distanza, che indicano dove è nascosto il cibo. I cani sono quindi in grado di comunicare tali informazioni ad altri cani (Cooper et al., 2003; Hare e Tomasello, 1999; Hare et al., 1998, 2002; Tópal et al., 1997). I cani sembrano possedere la capacità di effettuare una 'mappatura rapida' o di effettuare delle deduzioni in merito alla classe ed al nome degli oggetti senza averli imparati e di comunicare tale capacità agli uomini (Kaminski et al., 2004). I cani, al pari degli ultimi, soffrono inoltre di ciò che viene da noi identificato come ansia da maladattamento, quella manifestazione che interferisce con il normale funzionamento, nei confronti della quale è avvenuta la selezione nel corso della coevoluzione di cani e degli uomini. Quando si esaminano infine le frequenze delle mutazioni dell'espressione genica nel tessuto cerebrale, il cane domestico è l'unica specie fi-

nora studiata con frequenze paragonabili a quelli riscontrate nell'uomo. Nel loro complesso, questi dati suggeriscono fortemente che il cane può rappresentare un modello eccellente per molti aspetti inerenti al comportamento sociale umano, agli aspetti cognitivi e alle condizioni comportamentali patologiche, comprese quelle attinenti all'ansia ed all'invecchiamento cerebrale. Un vantaggio ottenuto da questi risultati paralleli è che i dati derivanti dagli studi sulla funzionalità del cervello umano possono essere importanti per comprendere la funzionalità del cervello canino. Questi parallelismi forniscono le modalità di gestire le informazioni a coloro che sono interessati a studiare i disturbi comportamentali nel cane.

## QUALI SONO LE NOSTRE CONOSCENZE RELATIVE ALLA GENETICA DEL COMPORTAMENTO NORMALE NEL CANE?

Al di là di queste generali associazioni inerenti alla popolazione, non capiamo molto della genetica comportamentale del cane, anche nel caso di un comportamento normale (Houpt and Willis, 2001). Gli studi, che sono stati concepiti per chiarire le componenti ereditabili dei tratti legati alla performance specifica di una razza, non hanno condotto a risultati definitivi. Le capacità di seguire la traccia e la capacità olfattiva nei bracchi tedeschi a pelo duro sembrano essere moderatamente ereditabili (con un'elevata varianza genetica additiva) e dovrebbero quindi rispondere rapidamente alla selezione. Per quel che riguarda un comportamento più complesso, come la guida del gregge, la modalità di ereditarietà e l'ereditabilità dei comportamenti che comprendano lo stile di approccio e l'istinto risultano discutibili e complesse. Le ricerche sull'aggressività imprevedibile non hanno portato a risultati definitivi sull'ereditabilità, anche se molte razze, in cui la diagnosi di aggressività da dominanza è relativamente comune, potrebbero avere degli individui affetti presenti in ogni generazione, il che suggerisce la presenza di una semplice ereditarietà dominante che dovrebbe essere oggetto di ulteriori studi. Nei pointer è stata studiata la timidezza o la mancanza di comportamento esplorativo; anche se questi comportamenti appaiono in diverse linee di sangue, non è tuttavia possibile eliminare i fattori ambientali. Esistono alcuni riscontri che hanno stabilito un collegamento tra il "temperamento" e la probabilità di sviluppare la displasia dell'anca nel cane da pastore tedesco; questa valutazione fa però riferimento ad un sistema di punteggio del temperamento che potrebbe aver reso poco chiaro i comportamenti individuali. In poche parole, sarà necessario un intenso lavoro per poter comprendere la genetica dei comportamenti normali ed anormali.

## RAZZE E PROBLEMI COMPORTAMENTALI

Possiamo quindi ipotizzare, visto che le razze rappresentano un intenso incanalamento della variabilità genetica, che le diverse razze possono anche presentare delle variazioni nei confronti dei geni, responsabili per i diversi processi biologici, quali la crescita e lo sviluppo cognitivo, le attitudini particolari e la propensione allo sviluppo di problemi comportamentali (McGreevy et al., 2004; Roberts et al., 2010). Ad esempio, gli studi genetici hanno recentemente spiegato i meccanismi, che sono responsabili per lo sviluppo delle differenze sessuali (dimorfismo dimensionale) durante la crescita del cane d'acqua portoghese di sesso femminile e maschile (Chase et al., 2005; Lark et al., 2006). I cani d'acqua portoghese, cani omozigoti per un aplotipo – o set di geni ereditati come blocco – sono quasi sempre di piccole dimensioni, mentre i cani omozigoti per il secondo aplotipo risultano quasi sempre di grandi dimensioni. Nelle razze canine la taglia è influenzata dal gene del fattore IGF1 (insulin-like growth factor 1) (Sutter, et al., 2007). Una singola variante IGF1 viene riscontrata in tutte le

razze piccole, ma risulta quasi assente nelle razze veramente giganti, a suggerire che – come è stato riscontrato per altri mammiferi – la mancanza del fattore IGF1 è associata alla piccola taglia. Tale ‘schema evolutivo’ fornirebbe sicuramente agli allevatori molte opportunità per selezionare altre caratteristiche, che possono variare con il variare della taglia.

Il processo che ha portato l’uomo ed il cane ad una così stretta associazione è probabilmente un vero processo coevolutivo e non semplicemente un processo attribuibile alla domesticazione.

Una relazione di così lunga durata ha influenzato sia la modalità di comunicazione tra l’uomo ed il cane, sia i tipi di problemi comportamentali che i cani possono sviluppare. Quando i cani sviluppano dei problemi comportamentali diagnosticabili, alcuni dei caratteri oggetto della selezione effettuata dall’uomo tendono a manifestarsi in funzione della presenza di questi problemi.

Queste analogie possono purtroppo indurre a sottostimare delle sottigliezze del comportamento canino e ad antropomorfizzare o “antropocentrizzare”. Ad esempio, un cane che scodinzola può essere o non essere felice; una coda scodinzolante indica una volontà di interagire, mentre una coda rigida con l’estremità scodinzolante è comune nei cani che sono sicuri di sé e aggressivi. Se un cane è patologicamente aggressivo, guardarlo fissamente o agguantarlo potrebbe essere sufficiente a scatenare un ulteriore comportamento agonistico ed un’esplicita aggressività. L’antropocentrismo porterà l’osservatore a non comprendere o ad ignorare il suo ruolo nell’aver scatenato tale aggressività. L’antropomorfismo consentirà all’osservatore di essere molto più empatico, ma è sempre necessario ricordare a tutti che, per essere in grado di comprendere il comportamento canino, è essenziale comprendere il punto di vista del cane (come un cane). In altre parole, anche dopo decine di migliaia di anni di coevoluzione, dobbiamo rispettare l’individualità dei cani, in quanto cani, e renderci conto che il comportamento viene meglio compreso all’interno di un contesto individuale, che si basa sulla comprensione delle razze e della selezione genetica.

Genetica a parte, nella maggior parte delle aggressività e delle ansie correlate alla maturità sociale (che generalmente inizia tra i 12 ed i 18 mesi di età e che si conclude attorno ai 18-36 mesi di età), la condizione manifestata dal cane deriva dai cambiamenti dell’ambiente sociale. La maggior parte dei cani con evidenti problemi di aggressività (ciò non include i cani addestrati a risposte aggressive, come nel caso di alcuni cani utilizzati nell’esercito) è anormale da un punto di vista clinico - comportamentale. L’anormalità è in genere progressiva ed è influenzata dall’ambiente sociale, quindi i segni notati dal cliente e dal clinico vanno via via cambiando. Possiamo facilmente comprendere questi cambiamenti progressivi nelle patologie infettive o non infettive e quindi dobbiamo essere in grado di comprenderli anche nelle patologie comportamentali, anche se un regolare screening, volto a stabilire le inclinazioni comportamentali, non rientra tra i consueti esami veterinari di routine. Detto questo, da qualsiasi cane, appartenente ad una razza e/o ad una linea familiare all’interno della razza, sottoposta ad una forte selezione in funzione di determinati caratteri (ad esempio la protezione), possiamo aspettarci che si possano presentare dei comportamenti anormali e delle evoluzioni di tali comportamenti, diversi da quelli presentati dai membri di una razza non così selezionata. In breve, la variabilità individuale è tanto importante per comprendere ed aiutare i cani con problemi, quanto lo è per definire i fenotipi utili a valutare il contributo genetico al comportamento.

Certe patologie comportamentali sono più comuni in alcune razze rispetto ad altre e quindi la razza può fornire informazioni in merito alla manifestazione patologica specifica. Ad esempio, i cani da pastore tedesco con disturbo ossessivo - compulsivo (OCD) mostrano più comunemente l’atteggiamento di rincorrersi continuamente la coda, mentre i cani di altre razze sofferenti di OCD presentano tipicamente sintomi diversi (Overall and Dunham, 2002). I risultati ottenuti dai programmi di miglioramento genetico nei cani alleva-

ti con uno scopo specifico (ad esempio, i cani utilizzati dalle autorità doganali australiane, i cani guida per ciechi) indicano inoltre che le diverse razze hanno risposte differenti per i caratteri e le risposte desiderati.

Il risultato di un'intensa ed attenta selezione sulla base delle associazioni o dei tratti covarianti consente di ottenere una prestazione costante nei comportamenti richiesti ai cani allevati a scopo specifico.

Nonostante questo forte intervento selettivo nel cane, raramente si presenta l'opportunità di poter valutare formalmente i fattori che influiscono congiuntamente, sia sulla forma (struttura) che sulla funzione (comportamento) dell'animale (cfr. Hare and Leighton, 2006). La valutazione della forma fisica, intesa come fenotipo, è semplice se paragonata alla valutazione della funzione comportamentale. Questo spiega in parte il successo relativo degli studi sulle caratteristiche somatiche ereditabili (ad es. atrofia retinica progressiva, sensibilità all'ivermectina, ecc.) rispetto a quelli sul comportamento.

## COMPORAMENTI ASSOCIATI ALLA RAZZA - ALCUNI ESEMPI

Sebbene i border collie presentino comportamenti di cani da guida del gregge più simili quando vengono paragonati tra di loro rispetto ad altre razze di cani da gregge, esiste tuttavia una significativa variabilità intra-razziale nella modalità e nella qualità del lavoro svolto dai singoli soggetti. Con quanta più specificità si studia l'aspetto relativo al comportamento di guida del gregge (ad esempio l'uso dello sguardo), tanto maggiore è la probabilità che i punteggi parentali e della progenie, che vengono attribuiti al carattere, siano simili (Burns and Frazier, 1966). Questi risultati indicano che i caratteri comportamentali sono ereditabili e dovrebbero essere esaminati utilizzando le tecniche di genetica molecolare.

Attualmente i border collie sono allevati per motivi diversi dalla loro funzione di cani da lavoro (quali per la 'bellezza' da esibire alle mostre canine, per attività sportive quali l'agility, o come cani da ricerca) e la variabilità comportamentale aumenta in funzione della lontananza dagli antenati allevati a scopo di lavoro (Chang et al., 2009). Il concetto tradizionale di temperamento non consente di esaminare tali cambiamenti intergenerazionali e non si presta bene a definizioni e valutazioni distinte di comportamenti specifici, che potrebbero presentare componenti genetiche individuali soggette, in vario grado, ad influenze ambientali. In altre parole, il tradizionale concetto di temperamento definisce in modo insufficiente un fenotipo, su cui basare le decisioni di selezione, e potrebbe avere collegamenti deboli con i genotipi che influenzano il comportamento del singolo cane o della singola razza. Quanto meno chiaramente un profilo comportamentale desiderato è definito, e quanto più diverge dai comportamenti nei quali il cane implicitamente eccelle, tanto maggiore sarà la probabilità di insuccesso dei piani di miglioramento genetico.

Questa scarsa correlazione esistente tra il fenotipo reale, rispetto a quello dichiarato, e la base genetica dei comportamenti di lavoro, è in larga misura uno dei principali motivi di insuccesso nella maggior parte dei piani di miglioramento genetico per la maggior parte dei cani da lavoro. Un'eccezione a quanto sopra detto è rappresentata dalla percentuale di successo pari a ~90% ottenuta nel programma per i cani antidroga, utilizzati dalle Autorità Doganali Australiane, basato su rigidi criteri di selezione volti a produrre un tipo di cani, che eccellono nello svolgimento dei propri compiti, che sono relativamente circoscritti. In effetti, i piani di miglioramento genetico, miranti a migliorare le anche o ad intervenire sulla numerosità della cucciolata (Hare and Leighton, 2006), hanno avuto maggiore successo rispetto a quelli concepiti per ottenere determinati comportamenti nell'esecuzione dei compiti (Ennik et al., 2006). Questo è in parte imputabile alla imprecisa descrizione della gamma dei fenotipi comportamentali, utili e desiderabili nelle popolazioni in questione.

## VALUTAZIONE DEL TEMPERAMENTO DEL CANE

Con ‘temperamento’ si tende attualmente a definire quelle caratteristiche individuali del comportamento, che sono relativamente stabili e che mostrano una certa costanza nel tempo e in presenza di svariate situazioni (Plomin, 1983), e quelle differenze comportamentali tra individui che sono relativamente costanti in presenza di situazioni di valutazione simili (Taylor and Mills, 2006). Nell’ambiente dei cani da lavoro, con ‘temperamento’ si è soliti definire una serie di comportamenti stabili, che in larga misura si ritiene abbiano una solida base genetica (Burghardt, 2003). Questa definizione deriva dalle descrizioni dei comportamenti da parte di appassionati cinofili ed allevatori di cani per lavori che richiedono specifiche sequenze comportamentali. Tali descrizioni sono state forzate ad adattarsi ad un concetto di ‘temperamento’ adeguato, rispetto a non adeguato, allo svolgimento di un determinato compito, senza prendere in debita considerazione l’accuratezza o l’utilità della descrizione originale.

Diederich and Giffroy (2006) fanno notare che alcuni autori non effettuano alcuna distinzione tra ‘temperamento’ e ‘personalità’ (Ledger and Baxter, 1997) o tra ‘temperamento’ e ‘carattere’ (Ruefenacht et al., 2002), in quanto i termini vengono usati in maniera intercambiabile. Di conseguenza, Diederich and Giffroy suggeriscono molto saggiamente di utilizzare il termine ‘temperamento’ solamente per una caratterizzazione sommaria del comportamento del cane, mentre le componenti utilizzate per la sua valutazione dovrebbero essere obiettive e misurabili.

Valutando il temperamento si è cercato di analizzare se le performance iniziali durante l’addestramento siano correlate alle ‘caratteristiche temperamentali’ individuali, in maniera predittiva per le performance più tardive (Mackenzie et al., 1985; Svartberg, 2002; Svartberg and Forkman, 2002; Svartberg et al., 2005; Svartberg et al., 2006). Purtroppo poche sono le prove che permettono di sostenere la validità o l’affidabilità di molti test di temperamento (ad es., Murphy, 1998; Jones and Gosling, 2005; Diederich and Giffroy, 2006; Taylor and Mills, 2006), e pochi, semmai esistono, sono stati oggetto di una validazione incrociata nelle varie popolazioni canine.

Le difficoltà associate all’utilizzo di ‘test di temperamento’ insorgono perché né risposte comportamentali standard né risposte fisiologiche facilmente misurabili sono ben analizzabili tramite modelli di risposta lineare o altri modelli predittivi comunemente usati, anche se utilizzando variabili fisiologiche i modelli predittivi rispondono meglio (Haverbeke et al., 2008; Gaines et al., 2008; Vincent and Leahy, 1997; Vincent et al., 1993); tuttavia tali test, per ora, non sono ancora in genere comunemente applicati.

Le valutazioni comportamentali, che sono di tipo “soft”, mancano di affidabilità e di ripetibilità. Infatti questi problemi sono caratteristici delle valutazioni che fanno uso di (1) questionari che si basano sull’impressione individuale di un comportamento o di (2) strumenti che si basano su valutazioni comportamentali facendo uso di scale o classificazioni. Le stesse perplessità, in merito alle tecniche ed alle misurazioni usate per le valutazioni, riguardano sia i cani d’affezione che i cani da lavoro (Taylor and Mills, 2006).

## CANI ALLEVATI A SCOPO SPECIFICO - PROBLEMI CON I TEST COMPORTAMENTALI

I cani allevati a scopo specifico vengono raramente addestrati per eccellere in una sola classe di comportamenti, anche se i cani destinati ad utilizzare l’olfatto o l’udito per identificare importanti stimoli (ad es. esplosivi, il suono di un’arma che viene caricata) sono in grado di avvicinarsi a questo obiettivo maggiormente degli altri. I cani impiegati per aiutare le persone non vedenti o con inabilità motorie, quelli impiegati nei lavori di perlustrazione e quelli impiegati sia nelle perlustrazioni che nelle attività di ricerca, devono essere di norma in grado di integrare delle abilità incredibilmente complesse, che possono non essere covarianti a livello

genetico. Quanto più complesse e numerose appaiono le sequenze comportamentali desiderate, tanto minore è la probabilità che queste siano da ricondursi ad una singola serie di geni.

Il motivo che porta più comunemente questi cani a fallire nei programmi previsti, è legato ad alcuni aspetti inerenti all'ansia, che pare interferire con la capacità del cane ad apprendere compiti complessi o ad adeguarsi ad ambienti e richieste in continuo cambiamento. I cani eccessivamente reattivi, aggressivi, incerti, inquieti o ansiosi, fanno parte della massa dei cani che vengono respinti da tali programmi dopo svariate valutazioni eseguite durante l'addestramento. I conduttori e gli istruttori svolgono un ruolo di fondamentale importanza, anche se molto poco studiato, nel causare e, o nella gestione dell'ansia da lavoro e questa associazione potrebbe avere spinto alcuni aspetti nella selezione dei cani verso programmi specifici. L'aspetto più interessante, derivante dai dati prodotti sinora su questo esteso argomento, è che i cani da lavoro maggiormente apprezzati potrebbero essere "super-normali" – cani che lavorano malgrado le loro condizioni di lavoro e non in virtù di queste – e che, quando gli allevatori selezionano per un'estrema tolleranza verso qualsiasi stimolo, finiscono quasi sempre per produrre anche cani che sono timorosi nei confronti degli stimoli stessi. Questo pattern fu notato in alcune delle prime ricerche effettuate per "migliorare" il comportamento nei cani. Nei cani da pastore tedesco, selezionati per la non reattività ai rumori, in particolar modo ai colpi di arma da fuoco, l'ereditarietà del carattere apparve di tipo mendeliano, per cui la mancanza di timore verso il rumore dell'arma da fuoco (N), è dominante rispetto alla presenza di timore (n), mentre l'eterozigote presentare attività intermedia (Humphrey and Warner, 1934). Questi dati suggeriscono che si potrebbero ottenere risultati migliori grazie a (1) un'accurata descrizione fenotipica del tratto comportamentale e (2) all'identificazione della variazione polimorfica ereditabile utilizzando metodi molecolari.

Tutti i piani di miglioramento genetico canino, che hanno cercato di produrre individui eccezionali (sia a livello comportamentale che morfologico), si sono avvalsi delle tecniche di genetica quantitativa che cercano di spostare la media della popolazione e/o di restringere la varianza del carattere. Senza essere a conoscenza della specifica variabilità genetica sottostante nella popolazione in questione, tali metodi potrebbero indurre ad esasperare il comportamento ricercato, rendendo il cane particolarmente reattivo *esattamente* nella circostanza in cui il cane avrebbe dovuto eccellere. Tali schemi suggeriscono fortemente che, quando una gamma di fenotipi viene riconosciuta, questi potrebbero corrispondere in maniera relativamente semplice ad una serie di polimorfismi genetici che, se identificati, possono aiutare a decidere quali cani possono presentare prestazioni buone od ottimali, senza diventare patologicamente reattivi. La validità di questo approccio è stata dimostrata sperimentalmente per i geni dei neurotrasmettitori ed i loro transporter (Hashizume et al., 2003; Ito et al., 2004; Masuda et al., 2004 a, b; Nimi et al., 1999; Takeuchi et al., 2005; van den Berg et al., 2003).

La modalità più diretta per identificare quegli animali che potrebbero fornire prestazioni migliori consiste (1) nell'identificare il fenotipo, (2) nel descrivere la sua distribuzione e variabilità all'interno della popolazione e (3) nel ricercare i pattern di varianza genetica che correlano con la varianza comportamentale individuata, utilizzando le tecniche di scansione del genoma. L'identificazione di comportamenti desiderati, abbinata alle valutazioni di intensità, frequenza e latenza, è superiore rispetto ad altri schemi di valutazione, basati su punteggi attribuiti in base a scale come le scale di Likert. Tali dettagliate informazioni comportamentali sono inoltre necessarie, per gli approcci di genetica molecolare su cani allevati per scopi specifici.

Da un punto di vista genetico, l'uso di un approccio comparativo rivolto principalmente verso una razza, ma che utilizza una o più razze provenienti da background di selezione diversi ma correlati, può rivelarsi molto potente. Se si paragonano individui di più razze all'interno di un gruppo razziale (ad es. pastori australiani, border collie e cani da pastore tedesco –razze utilizzate negli Stati Uniti) tra di loro e con altri individui sottoposti ad uno screening

simile, è possibile identificare sia i fenotipi rilevanti, inerenti agli aspetti che interessano, sia aumentare la validità del test per i marker genetici candidati, che potrebbero essere associati ai fenotipi comportamentali legati alla questione focale (ad es. idoneità e non idoneità nell'ambito di un programma inteso ad allevare cani che siano di aiuto alle persone non vedenti).

## IL CANE DOMESTICO E I SUOI FENOTIPI COMPLESSI - PUÒ ESSERE UN MODELLO PER L' UOMO ?

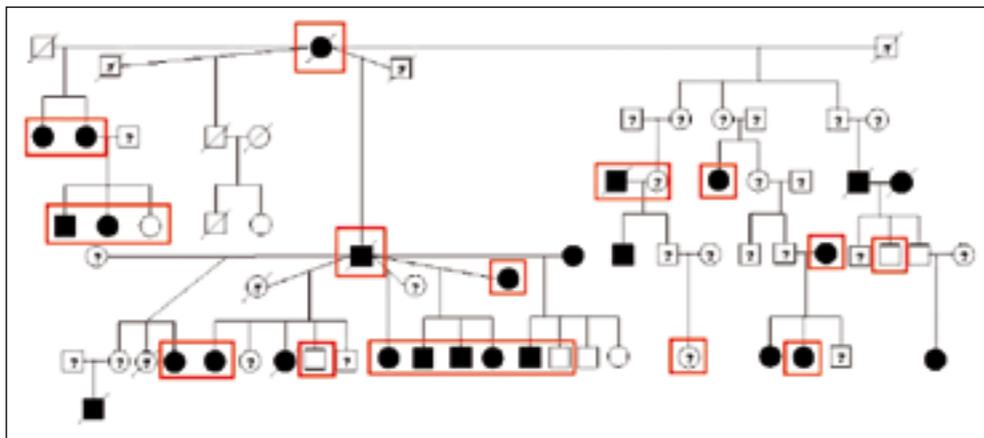
Lo studio di tratti complessi, compreso il comportamento, rappresenta una sfida per gli approcci standard quali l'analisi di linkage. Malgrado nell'uomo si sia ottenuto qualche successo nell'identificazione dei loci di suscettibilità per tali condizioni, gli studi svolti in precedenza, che si sono avvalsi dei tradizionali modelli animali – quasi sempre roditori -, forniscono solo modeste evidenze di associazione delle varianti del DNA con i fenotipi di interesse (Flint et al., 2005). Il cane domestico potrebbe essere un modello migliore per tratti genetici complessi, quali sono quelli coinvolti nei disturbi comportamentali (Sutter and Ostrander, 2004). Il cane, come modello per comportamenti complessi, presenta diversi vantaggi importanti rispetto ai roditori (Galibert et al., 2001), tra i quali la storia evolutiva condivisa tra cani ed uomini. Inoltre, l'entusiasmo e la stretta collaborazione tra i proprietari dei cani e gli allevatori promuove un crescente interesse nella genetica canina, all'interno dell'ambiente che ruota intorno al cane e consente di aver accesso ai campioni necessari.

A seguito della storia della sua domesticazione (Savolainen et al., 2002), il cane fornisce una serie di vantaggi per gli studi di mappatura genetica. Le razze sono state sviluppate mediante selezione per svolgere specifici tipi di compiti o lavori (Clutton-Brock et al., 1999) e la maggior parte delle razze attualmente esistenti ha meno di 150 anni; ciò riduce ulteriormente l'eterogeneità (Parker et al., 2004).

Esistono più di 300 razze canine, molte delle quali sono state sottoposte a stretti colli di bottiglia genetici. Ogni razza, quando questi colli di bottiglia si sono verificati, può essere considerata come una popolazione isolata inbred. Questo isolamento è considerato rigoroso, in quanto i cani registrati possono solamente, legittimamente, discendere da genitori registrati della stessa razza. Ciò significa che i "nuovi" geni non provengono da una fonte esterna e, di conseguenza, il pool di geni di molte razze sarebbe relativamente esiguo. L'entità del pool genico è anche pesantemente influenzata dall'uso di noti stalloni, con un notevole numero di cucciolate derivanti da un unico padre (questo vale anche per quei cani che sono allevati appositamente per la ricerca di sostanze particolari e per i cani da lavoro, in particolar modo se si ricorre alla fecondazione artificiale) (Chang et al., 2009). L'effettiva entità del pool genetico può essere anche influenzata facendo accoppiare la stessa fattrice più volte, ma l'effetto indotto da una fattrice nota è poca cosa in termini di contributo al pool genetico, se paragonato all'effetto indotto da uno stallone noto. Per i cani di razza pura esistono informazioni genealogiche dettagliate, pubblicate sotto forma di pedigree, di una qualità tale, che sono raramente disponibili per gli uomini.

Se si è interessati a dei modelli canini per le patologie umane, si può disporre di pedigree canini che si estendono fino a 5 e 6 generazioni, con i membri della 3a e 4a generazione che sono simultaneamente disponibili – situazione improbabile per qualsiasi pedigree umano. La Figura 1 è un esempio di un pedigree che include 4 generazioni complete di cani di una razza, con numerosi membri che presentano una profonda reattività al rumore, ed è anche un esempio del tipo di informazioni che possono essere disponibili. Nel caso di reattività al rumore, una prima ricerca ha suggerito che ciò potrebbe essere una manifestazione relativamente comune nelle razze di cani da guida del gregge. Le razze possono differenziarsi nella loro reattività (Overall et al., 2009) ed in una razza, oggetto di un approfondito esame genetico, i geni

nelle regioni identificate su CFA5 e CFA8 possono svolgere un ruolo nell'aumentata suscettibilità alla fonofobia mostrata da questa razza. Le regioni rilevate sembrano essere coinvolte nei sistemi regolatori attinenti allo sviluppo del sistema nervoso centrale e alla funzionalità cerebrale (Yokoyama et al., 2010). Queste funzioni regolatrici, potenzialmente complesse, sono state anche rilevate in una forma di OCD (disturbo ossessivo compulsivo), quale il succhiamento del fianco, nei doberman pinscher (Dodman et al., 2010).



*Figura 1: Linea familiare di una razza, in uno studio dell'autrice, in cui veniva lamentata una profonda reattività al rumore. I cerchi indicano le femmine, i quadrati indicano i maschi. I cerchi ed i quadrati colorati indicano i cani reattivi, i cerchi ed i quadrati bianchi indicano i cani non reattivi, ed i cerchi ed i quadrati contrassegnati da un punto interrogativo indicano i cani di cui non è nota la reattività. Gli individui con una barra trasversale sul simbolo sono defunti. Gli individui racchiusi all'interno di un quadrato rosso sono quelli di cui erano disponibili campioni di DNA da sangue intero. (Un ringraziamento va alla Dr. Melanie Chang per aver prodotto il pedigree).*

I recenti progressi avvenuti nella genomica canina hanno potenzialmente facilitato gli sforzi necessari per mappare i geni per i comportamenti complessi (Kirkness et al., 2003; Lindblad-Toh et al., 2005). Il lavoro svolto da Lindblad-Toh e colleghi è notevole per la dimostrazione di estesa sintenia – fondamentalmente, somiglianza esatta - esistente tra i genomi canini ed umani, come pure per il risultato che indica che il cane, sebbene meno imparentato con gli uomini rispetto ai roditori (Springer et al., 2004), presenta maggiore omologia nucleotidica con gli uomini rispetto ai roditori. Ancora una volta, questo è verosimilmente il risultato di un processo coevolutivo, che potrebbe essere in corso.

## PROGRESSI FINORA CONSEGUITI NELLA RICERCA SULLA GENETICA COMPORTAMENTALE CANINA

In seguito ai motivi finora indicati, il campo della genetica comportamentale canina appare sia essenziale che arduo. La stragrande maggioranza dei comportamenti presuppone verosimilmente l'intervento di geni multipli (è poligenica), anche se in associazione con considerevoli effetti genici. Nella nostra ricerca, volta ad individuare quei comportamenti influenzati da componenti genetiche, può essere utile comprendere che gli attributi fisici e compor-

tamentali covariano (Overall, 2005). Un'analisi con marcatori genetici sulle razze ha dimostrato che le razze clusterizzano geneticamente in maniera molto simile alla modalità in cui clusterizzano a livello comportamentale (Parker et al., 2004). Le ramificazioni di tali pattern devono essere prese seriamente in considerazione, quando si cerca di comprendere i cambiamenti comportamentali all'interno delle razze. Ad esempio, i cani selezionati per una postura inclinata in avanti presentano verosimilmente alterazioni scheletriche e comportamentali, in quanto non è normale essere costantemente in una posizione inclinata in avanti. Dobbiamo iniziare a rianalizzare la nostra selezione artificiale domandandoci se abbiamo scelto tratti o comportamenti che, essendo covarianti con un carattere fisico, risultano indesiderabili. Questo contribuirà a definire la distribuzione 'normale' rilevante.

La chiave per comprendere le associazioni esistenti tra i comportamenti e la genetica – e con ciò la speranza di poter effettuare un trattamento o un counseling genetico – risiede nell'identificazione del fenotipo – l'identificazione di un qualcosa che è imputabile almeno in parte ai suoi geni. I fenotipi tendono a non essere diagnosi, ma possono costituire differenti tipologie di reattività all'interno di una diagnosi ben definita (ad es., Overall et al., 2009). Una definizione dettagliata del fenotipo per i cani, che presentano disturbi chiaramente ereditabili, è disponibile attualmente solo per popolazioni selezionate di cani con disturbi correlati all'ansia e in gruppi di cani allevati a scopo specifico, sofferenti di forme d'ansia ereditabili (Overall et al., 1999; Overall and Dunham, 2002; Overall et al., 2005). I tentativi effettuati per definire ed identificare i 'tratti della personalità' (Svartberg, 2002; Svartberg and Forkman, 2002), correlati a comportamenti specifici, non sono sufficientemente fondati su basi biologiche, tali da consentirci di definire in maniera distinta il range di fenotipi deputati al successo ed il range di quelli deputati all'insuccesso nella maggior parte dei cani da lavoro – cani nei confronti dei quali deteniamo idealmente un maggior controllo. Solo un approccio, in grado di integrare i fenotipi comportamentali e fisiologici con quelli molecolari e genetici, ci consentirà di andare oltre questi vincoli e di superare l'approccio della genetica quantitativa (Overall et al., 2006).

## LO 'SPETTRO' DELLE RAZZE E DEI CANI MORDACI

Una delle principali preoccupazioni relative alla genetica comportamentale canina verte attorno alla discussione, attualmente in corso e apparentemente estesa a livello mondiale, sulla normativa specifica per le razze, come possibile intervento per ridurre l'incidenza dei morsi inflitti dai cani.

Sulla scorta dei dati attualmente disponibili, dovremmo chiederci se tale impeto sia giustificato e comprovato. In base ai dati, che continuano ad essere pubblicati, la risposta sembra propendere per un 'no'. In effetti, gli studi hanno attualmente dimostrato che, mentre i soggetti delle varie razze possono avere ontogenesi diverse e presentare pattern di risposta differenti nei confronti di stimoli simili, non esistono tuttavia dati a sostegno del fatto che una razza sia *patologicamente* più aggressiva di altre (Ott et al., 2008; Schalke et al., 2008), a meno che non sia allevata ed addestrata ad essere tale (ad es., i cani impegnati in veri combattimenti tra cani), o ci sia stata una selezione involontaria per la patologia in questione (Amat et al., 2007).

Sembrano esserci poche prove che indicano che una razza è effettivamente coinvolta in modo sproporzionato nelle casistiche dei cani mordaci, nel momento in cui si prendono in esame gli aspetti relativi alla percentuale della frazione attribuibile della popolazione (PAF %) (Overall and Love, 2001; Collier, 2006; Cornelissen et al., 2010; Patronek et al., 2010). Il PAF % è una modalità utilizzata per valutare, dato il numero degli animali in una razza, se tale razza è sovra rappresentata nelle statistiche inerenti alla mordacità dei cani. Raramente disponiamo di dati sufficientemente validi, adeguati per effettuare delle reali valutazioni PAF %, ad ecce-

zione di quei paesi dove esiste la prassi di registrare i cani. Quando si esaminano i dati provenienti da tali paesi non pare esistere un'associazione tra i morsi inflitti all'uomo e determinate razze (Fatjo et al., 2007; Rosado et al., 2007, 2009). Le razze maggiormente diffuse tendono ad essere maggiormente presenti nelle statistiche di mordacità, semplicemente in quanto più numerose in virtù della loro diffusione (Overall and Love, 2001). Nessuno dovrebbe dubitare della possibilità di poter effettuare una selezione genetica volta ad ottenere cani anormalmente e pericolosamente aggressivi, ma i dati non suffragano tali fatti.

Un'attenta lettura della letteratura riguardante la mordacità dei cani indica 3 conclusioni inerenti alla razza.

(1) Le razze maggiormente rappresentate nei dati inerenti alla mordacità dei cani cambiano posizione nella graduatoria con il passare del tempo. Ciò potrebbe indicare dei cambiamenti nella preferenza dei proprietari nei confronti di una determinata razza, piuttosto che dei cambiamenti nelle tendenze aggressive specifiche della razza di per sé.

(2) Le razze maggiormente rappresentate nei dati pubblicati sono razze che godono di popolarità e nessuna razza può essere rappresentata nei dati di mordacità in maniera sproporzionata rispetto alla sua presenza all'interno della popolazione canina. Non sono disponibili dati validi inerenti alla numerosità degli individui presenti in ogni razza e negli incroci rispetto alla popolazione di vittime umane studiate, ma sarebbero essenziali per supportare qualsiasi affermazione sostanziale e giustificata relativamente alla sovra rappresentazione di una razza.

(3) Il termine "pit bull" viene ampiamente utilizzato, spesso senza alcun riscontro biologico, per definire una gamma di tipologia di cani, senza considerare il patrimonio genetico sottostante. Quest'ultimo problema viene probabilmente enfatizzato in quelle zone dove è già avvenuto un attacco da "pit bull", che è stato pubblicizzato.

Visto che nessuna razza è sovra rappresentata nelle statistiche relative alla mordacità dei cani, ciò non significa negare l'esistenza di cani aggressivi. I cani patologicamente aggressivi rappresentano un rischio per tutti coloro che sono coinvolti. E' necessario comprendere il ruolo che abbiamo svolto, sia attivamente che passivamente, nel selezionare per un comportamento inadeguato o aggressivo. I dati pubblicati indicano che i dati demografici, inerenti alle razze di cani mordaci, possono covariare con la popolarità della razza e che queste variazioni possono essere rilevanti per il gruppo dei bambini (maschi di età tra 5-9 anni) che sono sovra-rappresentati nelle casistiche relative ai cani mordaci (Overall and Love, 2001; De Keuster et al., 2006; The Blue Dog Trust, 2006). I comportamenti delle razze non rimangono statici quando la razza diventa maggiormente diffusa – questi comportamenti cambiano secondo delle modalità ben note ai genetisti che svolgono indagini sulla popolazione. Esempi inerenti a questi tipi di cambiamenti sono riportati di seguito.

(1) Se una razza è stata allevata e selezionata per mostrare una serie relativamente ristretta di comportamenti considerati accettabili e gli individui al di fuori dei limiti dell'accettabilità sono stati o abbattuti o non allevati, dopo venti generazioni, quando la razza diventa diffusa, si verificano due cose: (a) in primo luogo, la selezione si allenta e, dato che la variazione genetica additiva sottostante è ancora presente, i tratti meno favorevoli vengono espressi e (b) gli individui che esprimono questi tratti e comportamenti non hanno subito una selezione avversa nei loro confronti; al contrario, erano fortemente richiesti perché i cani erano "tosti" o "forti" o "svegli". In questo caso, i proprietari tollerano, selezionano per e potenziano dei comportamenti inadeguati e fuori contesto. Si veda la Tabella 1 per avere un'idea di quanto la popolarità di una razza finisca, nel tempo, per influenzare le interpretazioni in merito ai cani ritenuti mordaci, e quanto possono essere variabili i dati raccolti.

(2) Se la razza è stata allevata e selezionata per avere un certo aspetto o per eseguire una serie di comportamenti (ad es., la guardia o guida del gregge) e gli allevatori hanno voluto spostare deliberatamente la media della popolazione verso un cane lievemente più "perfetto", dimenticando che, in assenza di selezione nei confronti di tratti non desiderabili, l'intera di-

istribuzione normale subisce uno spostamento e la proporzione di cani con caratteri non desiderabili, o che si comporta in maniera inadeguata, viene anch'essa ad aumentare.

In sintesi, il miglior predittore di mordacità potrebbe essere rappresentato dal comportamento degli uomini, che si trovano ad interagire con i cani. Mentre i singoli cani possono presentare problemi comportamentali e presentare un rischio maggiore di mordacità nei confronti dell'uomo o di altri cani, non esistono tuttavia evidenze, tali da indicare che una razza sia più problematica di altre. L'attenzione dovrebbe essere invece rivolta nei confronti di singoli cani, nei confronti di linee specifiche, quando gli individui all'interno di una famiglia di cani presentano più di un cane aggressivo, e nei confronti dei comportamenti e dei contesti umani all'interno dei quali gli uomini sono stati morsi.

## CONCLUSIONI

Il tentativo di comprendere i contributi genetici nei confronti del comportamento canino è un'attività complessa. Nell'ambito dei risultati ottenuti sui caratteri comportamentali dell'uomo, tramite la scansione del genoma, gli studi di genetica molecolare effettuati finora (Dodman et al., 2010; Yokoyama et al., 2010) hanno dimostrato solo deboli associazioni con le regioni genetiche che sembrano contenere i geni regolatori o con quelle che possono modificare altre azioni geniche, malgrado le informazioni del pedigree che suggeriscono una chiara ereditarietà lineare. Questi risultati suggeriscono che il counseling genetico può essere utilizzato al meglio, razionalmente, facendo ricorso a pattern comportamentali familiari. Precise definizioni fenotipiche, che condurranno a valutazioni genetiche informative, richiederanno l'arruolamento negli studi di centinaia di cani che presentano o meno i problemi, richiederanno che siano seguiti nel tempo e richiederanno che nei fenotipi si faccia uso di informazioni più dettagliate a livello comportamentale e fisiologico. Tali studi ci potranno essere d'aiuto nel comprendere i meccanismi dei problemi condivisi dagli uomini e dai cani, a reciproco e continuo vantaggio.

**Tabella 1: Dati provenienti da vari studi relativi a morsi di cani, usando metodi diversi che specificano i dati della razza per almeno 3 razze; in ogni studio vengono elencate le 3 razze principali. Questi dati indicano che i cani che godono di maggiore popolarità sono responsabili per la maggior parte dei morsi inflitti, e la maggior parte delle razze non è rappresentata in maniera sproporzionata. La popolarità della razza varia anche in funzione del tempo e della ragione geografica. (Vedi Overall and Love, 2001 per tutti i riferimenti ed i dettagli)**

Fonte di studio	3 razze più comuni coinvolte molto spesso in morsicature segnalate (+/-il livello di significatività: † $G_{adj}$ è il log-likelihood ratio $\chi^2$ test come calcolato da Overall and Love;* indica $P < 0.05$ .																					
1993 – distribuzione delle razze di cani in isolamento in canile a causa di un morso, in WI, USA, paragonata al numero totale dei cani delle razze elencate, ospitati nel canile per altri motivi	<p>Chow chow (13 / 170; 7.6%) <math>P &lt; 0.05</math>; <math>G_{adj} = 9.49</math> † (c'erano decisamente molti più cani di questa razza ricoverati per motivi di non mordacità rispetto ai cani di questa razza ricoverati per mordacità)</p> <p>Cocker spaniel (23 / 316; 7.3%) <math>P &lt; 0.05</math>; <math>G_{adj} = 15.543</math> † (c'erano decisamente molti più cani di questa razza ricoverati per motivi di non mordacità rispetto ai cani di questa razza ricoverati per mordacità)</p> <p>Lhasa apso (14 / 203; 6.9%) <math>P &lt; 0.05</math>; <math>G_{adj} = 8.261</math> † (c'erano decisamente molti più cani di questa razza ricoverati per motivi di non mordacità rispetto ai cani di questa razza ricoverati per mordacità)</p>																					
Razza predominante in uno studio caso- controllo su 178 cani non mordaci e 178 cani mordaci	<table border="0" style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 50%;"></td> <td style="text-align: center;">Cani mordaci</td> <td style="text-align: center;">Cani non mordaci</td> </tr> <tr> <td>Chow chow</td> <td style="text-align: center;">31 /178 17.4%</td> <td style="text-align: center;">9/178 5.1%</td> </tr> <tr> <td colspan="3"><math>P &lt; 0.001</math>; test <math>\chi^2</math> corretto Yates</td> </tr> <tr> <td>Pastore tedesco</td> <td style="text-align: center;">34/178 19.1%</td> <td style="text-align: center;">13/178 7.3%</td> </tr> <tr> <td colspan="3"><math>P &lt; 0.001</math>; test <math>\chi^2</math> corretto Yates</td> </tr> <tr> <td>Collie</td> <td style="text-align: center;">8 /178 4.5%</td> <td style="text-align: center;">1/178 0.6%</td> </tr> <tr> <td colspan="3"><math>P = 0.04</math>; test esatto di Fisher, a 2 code</td> </tr> </table> <p>In questo studio tutte le 3 razze avevano più cani mordaci che non mordaci, quando i 2 gruppi omogenei venivano paragonati.</p>		Cani mordaci	Cani non mordaci	Chow chow	31 /178 17.4%	9/178 5.1%	$P < 0.001$ ; test $\chi^2$ corretto Yates			Pastore tedesco	34/178 19.1%	13/178 7.3%	$P < 0.001$ ; test $\chi^2$ corretto Yates			Collie	8 /178 4.5%	1/178 0.6%	$P = 0.04$ ; test esatto di Fisher, a 2 code		
	Cani mordaci	Cani non mordaci																				
Chow chow	31 /178 17.4%	9/178 5.1%																				
$P < 0.001$ ; test $\chi^2$ corretto Yates																						
Pastore tedesco	34/178 19.1%	13/178 7.3%																				
$P < 0.001$ ; test $\chi^2$ corretto Yates																						
Collie	8 /178 4.5%	1/178 0.6%																				
$P = 0.04$ ; test esatto di Fisher, a 2 code																						
Razze incluse in uno studio prospettico sulle lesioni inflitte dal morso del cane esaminate presso il Children's Hospital of Philadelphia (CHOP), 1989; 156 cani di razze identificabili più quelli identificati come incroci	<table border="0" style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 50%;"></td> <td style="text-align: center;">35</td> <td style="text-align: center;">(20.8%)</td> </tr> <tr> <td>Pastore tedesco</td> <td style="text-align: center;">33</td> <td style="text-align: center;">(19.6%)</td> </tr> <tr> <td>Pit bull ***</td> <td style="text-align: center;">8</td> <td style="text-align: center;">(5.4%)</td> </tr> <tr> <td>Rottweiler</td> <td colspan="2"></td> </tr> </table> <p>*** di questi cani mordaci, quelli <i>identificati</i> come pit bull erano sovra rappresentati nei casi di morsi apparentemente non provocati ed in quelli inflitti da cani randagi; <math>p &lt; 0.01</math> o meglio, test <math>\chi^2</math></p>		35	(20.8%)	Pastore tedesco	33	(19.6%)	Pit bull ***	8	(5.4%)	Rottweiler											
	35	(20.8%)																				
Pastore tedesco	33	(19.6%)																				
Pit bull ***	8	(5.4%)																				
Rottweiler																						

<b>Fonte di studio</b>	<b>3 razze più comuni coinvolte molto spesso in morsicature segnalate (+/-il livello di significatività: † <math>G_{adj}</math> è il log-likelihood ratio <math>\chi^2</math> test come calcolato da Overall and Love;* indica <math>P &lt; 0.05</math>.</b>									
Indagine su 455 famiglie in un ambulatorio pediatrico a Denver (U.S.A.) in cui si paragonano le razze che avevano morso e quelle possedute dalle famiglie	<p>Pastore tedesco + meticci di pastore: 34 (17.5%) cani responsabili per morsi inflitti ai pazienti rispetto a 21(11.0%) cani della stessa razza posseduti da pazienti *</p> <p>Incroci di peso superiore a 30 lbs 24 (12.4%) cani responsabili per morsi inflitti ai pazienti rispetto a 27 (14.2%) cani della stessa razza posseduti da pazienti ++</p> <p>Barbone 20 (10.3) cani responsabili per morsi inflitti ai pazienti rispetto a 27 (14.2%) cani della stessa razza posseduti da pazienti ++</p> <p>* <math>p &lt; 0.05</math>, test <math>\chi^2</math>, in base alla distribuzione delle razze, quando nota ++ Nessuna differenza statisticamente significativa nel numero dei cani che mordono, paragonato al numero dei cani posseduti</p>									
Morsi inflitti dai 3 principali gruppi di razze su 135 morsi di cane, in totale, esaminati nel 1975 presso il Pronto Soccorso della UCLA e che sono stati inviati alla chirurgia	<table border="0"> <tr> <td>Incroci</td> <td>41/135</td> <td>(31%)</td> </tr> <tr> <td>Pastore tedesco</td> <td>28/135</td> <td>(37%)</td> </tr> <tr> <td>Terrier – tipo non specificato</td> <td>5/135</td> <td>(7%)</td> </tr> </table>	Incroci	41/135	(31%)	Pastore tedesco	28/135	(37%)	Terrier – tipo non specificato	5/135	(7%)
Incroci	41/135	(31%)								
Pastore tedesco	28/135	(37%)								
Terrier – tipo non specificato	5/135	(7%)								

## BIBLIOGRAFIA

- 1) Amat, M., Xavier Manteca, X., Valentina M. Mariotti, V.M., Ruiz de la Torre, J.L., and Fatjó J. 2007. Aggressive behavior in the English cocker spaniel. J. Vet. Behav.: Clin. Appl. Res. 4, 111-117.
- 2) The Blue Dog Trust, 2006. The Blue Dog Parent Guide and CD, The Blue Dog Trust, UK; <http://www.thebluedog.org>.
- 3) Burghardt, W.F., 2003. Behavioral Considerations in the Management of Working Dogs. Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract. 33, 2, 417-446.
- 4) Burns, M. and Fraser, M.N. 1966. Genetics of the Dog: The Basis of Successful Breeding. Oliver and Boyd, Edinburgh.
- 5) Chang ML, Yokoyama JS, Branson N, Dyer DJ, Hitte C, Overall KL, Hamilton SP. Intra-breed stratification related to divergent selection regimes in purebred dogs may affect interpretation of genetic association studies. J Heredity 100:28-36, 2009.
- 6) Chase, K., Carrier, D.R., Adler, F.R., Ostrander, E.A., and Lark, K.G. (2005). Interaction between the X chromosome and an autosome regulates size sexual dimorphism in Portuguese Water Dogs. Genome Res. 15, 1820-1824.
- 7) Clutton-Brock, J. 1999. A Natural History of Domesticated Mammals. Cambridge, U.K: Cambridge University Press.
- 8) Collier, S., 2006. Breed-specific legislation and the pit bull terrier: Are the laws justified? Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research 1, 17-22.

- 9) Cooper JJ, Ashton C, Bishop S, West R, Mills DS, Young RJ. Clever hounds: social cognition in the domestic dog (*Canis familiaris*). *Appl Anim Behav Sci* 81:229-244, 2003.
- 10) Cornelissen, J.M.R., Hopster, H., 2010. Dog bites in The Netherlands: a study of victims, injuries, circumstances and aggressors to support evaluation of breed specific legislation. *Vet. J.* doi:10.1016/j.tvjl.2009.10.001.
- 11) De Keuster, T., Lamoureux, J., and Kahn, A., 2006. Epidemiology of dog bites: A Belgian experience of canine behaviour and public health concerns. *Veterinary Journal* 172, 482-487.
- 12) Diederich, C., Giffroy, J.M., 2006. Behavioural testing in dogs: A review of methodology in search for standardisation. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 97, 51-72.
- 13) Dodman, N.H., Karlsson, E.K., Moon-Fanelli, A., Galdzicka, M., Perloski, M., Shuster, L., Lindblad-Toh, K., Ginns, E.I., 2010. A canine chromosome 7 locus confers compulsive disorder susceptibility. *Mol. Psych.* 15, 8-10.
- 14) Ennik, I., Liinamo, A.E., Leighton, E., van Arendonk, J., 2006. Suitability for field service in 4 breeds of guide dogs. *J. Vet. Behav. Clin. Appl. Res.* 1, 2, 67-74.
- 15) Fatjo, J., Amat, M., Mariotti, V.M., Ruiz de la Torre, J.L., and Manteca X. 2007. Analysis of 1040 cases of canine aggression in a referral practice in Spain. *J. Vet. Behav.: Clin. Appl. Res.* 2, 158-165.
- 16) Flint, J., Valdar, W., Shifman, S., and Mott, R. 2005. Strategies for mapping and cloning quantitative trait genes in rodents. *Nat Rev Genet* 6, 271-286.
- 17) Gaines, S.A., Rooney, N.J., Bradshaw, J.W.S., 2008. The effect of feeding enrichment upon reported working ability and behavior of kenneled working dogs. *J. Forensic Sci.* 53, doi: 10.1111/j.1556-4029.2008.00879.x
- 18) Galibert, F., Wilton, A. N., and Chuat, J. C. 2001. The Canine Model in Medical Genetics. Pages 505-520 in: *The Genetics of the Dog*, A. Ruvinsky and J. Sampson, (eds.) CABI Publishing, New York.
- 19) Hare B, Call J, Tomasello M. Communication of food location between human and dog (*Canis familiaris*). *Evol Commun* 2:137-159, 1998.
- 20) Hare B, Tomasello M. Domestic dogs (*Canis familiaris*) use human and conspecific social cues to locate hidden food. *J Comp Psychol* 113:173-177, 1999.
- 21) Hare B, Brown M, Williamson C, Tomasello M. The domestication of social cognition in dogs. *Science* 298:1634-1636, 2002.
- 22) Hare, E., Leighton, E.A., 2006. Estimation of Heritability of Litter Size in Labrador Retrievers and German Shepherd Dogs. *J. Vet. Behav. : Clin. Appl. Res.* 1, 62-66.
- 23) Hashizume C, Suzuki M, Masuda K, Momoawa Y, Kikusui T, Takeuchi Y, Mori Y. 2003. Molecular cloning of canine monamine oxidase subtypes A (MAOA) and B (MAOB) cDNAs and their expression in the brain. *J Vet Med Sci* 65, 893-898.
- 24) Haverbeke, A., Diederich, C., Depiereux, E., Giffroy, J.M., 2008. Cortisol and behavioral responses of working dogs to environmental challenges. *Physiol. Behav.* 93, 59-67.
- 25) Houpt KA, Willis MB. Genetics of behaviour. In: *The Genetics of the Dog*, edited by A. Ruvinsky and J. Sampson, CABI International, New York, 2001:371-400.
- 26) Humphrey, E.S. and Warner L. 1934. *Working Dogs*. Johns Hopkins Press, Baltimore.
- 27) Ito H, Nara H, Inoue-Murayama M, Shimada MK, Koshimura A, Ueda Y, Kitagawa H, Rakeuchi Y, Mori Y, Murayama Y, Morita M, Iwasaki T, Ota K, Tanabe Y, Ito S. 2004. Allele frequency distribution of the canine dopamine receptor D4 gene exon III and I in 23 breeds. *J Vet Med Sci* 66, 815-820.
- 28) Jones, A.C., Gosling, S.D., 2005. Temperament and personality in dogs (*Canis familiaris*): A review and evaluation of past research. *Appl. Ani. Behav. Sci.* 95, 1-53.
- 29) Kaminski J, Call J, Fischer J. Word learning in a domestic dog: evidence for "fast mapping". *Science* 304:1682-1683, 2004.
- 30) Kirkness, E.F., Bafna, V., Halpern, A.L., Levy, S., Remington, K., Rusch, D.B., Delcher, A.L.,

- Pop, M., Wang, W., Fraser, C.M., and Venter, J.C. (2003b). The dog genome: survey sequencing and comparative analysis. *Science* 301, 1898-1903.
- 31) Lark, K.G., Chase, K., and Sutter, N.B. 2006. Genetic architecture of the dog: sexual size dimorphism and functional morphology. *Trends in Genetics* 22, 537-544.
  - 32) Ledger, R.A., Baxter, M.R., 1997. The development of a validated test to assess the temperament of dogs in a rescue shelter. *Proceedings of the First International Conference on Veterinary Behavioural Medicine*, 87-92.
  - 33) Lindblad-Toh, K., Wade, C.M., Mikkelsen, T.S., Karlsson, E.K., Jaffe, D.B., Kamal, M., Clamp, M., Chang, J.L., Kulbokas, E.J., Zody, M.C., Mauceli, E., Xie, X., Breen, M., Wayne, R.K., Ostrander, E.A., Ponting, C.P., Galibert, F., Smith, D.R., deJong, P.J., Kirkness, E., Alvarez, P., Biagi, T., Brockman, W., Butler, J., Chin, C.W., Cook, A., Cuff, J., Daly, M.J., DeCaprio, D., Gnerre, S., Grabherr, M., Kellis, M., Kleber, M., Bardeleben, C., Goodstadt, L., Heger, A., Hitte, C., Kim, L., Koepfli, K.P., Parker, H.G., Pollinger, J.P., Searle, S.M.J., Sutter, N.B., Thomas, R., Webber, C., and Lander, E.S. 2005. Genome sequence, comparative analysis and haplotype structure of the domestic dog. *Nature* 438, 803-819.
  - 34) Mackenzie, S.A., Oltenacu, E.A.B., Leighton, E.A., 1985. Heritability estimate for temperament scores in German shepherd dogs and its genetic correlation with hip dysplasia. *Behav. Genet.* 15, 475-482.
  - 35) Masuda K, Hishizume C, Kikusui T, Takeuchi Y, Mori Y. 2004a. Breed differences in genotype and allele frequency of catechol O-methyltransferase gene polymorphic regions in dogs. *J Vet Med Sci* 66, 183-187.
  - 36) Masuda K, Hashizume C, Ogata N, Kikusui T, Takeuchi Y, and Mori Y. 2004b. Sequencing of canine 5-hydroxytryptamine receptor (5-HTR) 1B, 2A, 2C genes and identification of polymorphisms in the 5HTR1B gene. *J Vet Med Sci* 66, 965-972.
  - 37) McGreevy, P., Grassi, T.D., Harman, A.M., 2004. A strong correlation exists between the distribution of retinal ganglion cells and nose length in the dog. *Brain Behav. Evol.* 63, 13-22.
  - 38) Murphy, J.A., 1998. Describing categories of temperament in potential guide dogs for the blind. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 58, 163-178.
  - 39) Nimi Y, Inoue-Murayama M, Murayama Y, Ito S, Iwasaki T. 1999. Allelic variation of the D4 dopamine polymorphic region in two dog breeds, Golden retriever and Shiba. *J Vet Med Sci* 61, 1281-1286.
  - 40) Ott S.A., Schalke E., von Gaertner A.M., and Hackbarth, H. 2008. Is there a difference? Comparison of golden retrievers and dogs affected by breed-specific legislation regarding aggressive behavior. *J. Vet. Behav.: Clin. Appl. Res.* 3, 134-140.
  - 41) Overall KL. *Clinical Behavioral Medicine for Small Animals*. Mosby, St. Louis, MO, 1997.
  - 42) Overall KL. *Veterinary behavioural medicine: a roadmap for the 21st century*. *The Veterinary Journal* 2005, 169:130-143.
  - 43) Overall, K.L. and Love, M., 2001. Dog bites to humans - Demography, epidemiology, injury, and risk. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 218, 1923-1934.
  - 44) Overall, K.L. and Dunham, A.E. 2002. Clinical features and outcome in dogs and cats with obsessive-compulsive disorder: 126 cases (1989-2000). *J Am Vet. Med Assoc.* 221, 1445-1452.
  - 45) Overall K.L., Dunham A.E., and Acland G. 1999. Responses of genetically fearful dogs to the lactate test: Assessment of the test as a provocative index and application in mechanistic diagnoses. *World Congress on Psychiatric Genetics, Monterey CA. Molecular Psychiatry* 4, S125.
  - 46) Overall K. L., Dyer D., Dunham A.E., Schechter L., and Hamilton S.P. 2005. Hereditary

- fear, panic, and anxiety in dogs (*Canis familiaris*). Current Issues and Research in Veterinary Behavioural Medicine, Papers presented at the 5th International Veterinary Behaviour Meeting, editors Mills DS, et al. 2005, 221-224.
- 47) Overall K.L., Hamilton S.P., and Chang M.L. 2006. Understanding the genetic basis of canine anxiety: phenotyping dogs for behavioral, neurochemical, and genetic assessment. *J Vet Behav: Clin Appl Res* 1, 124-141.
  - 48) Overall, K.L., Juarbe-Diaz, S.V., Dyer, D.J., Dunham, A.E., Chang, M.L., Yokoyama, J., 2009. Phenotypic determination of noise reactivity in 3 breeds of working dogs: roles for age, breed and careful assessment. *Canine Science Forum Proceedings*, 25-28 July 2010, Vienna, Austria, 138.
  - 49) Parker, H.G., Kim, L.V., Sutter, N.B., Carlson, S., Lorentzen, T.D., Malek, T.B., Johnson, G.S., DeFrance, H.B., Ostrander, E.A., and Kruglyak, L. 2004. Genetic Structure of the Purebred Domestic Dog. *Science* 304, 1160-1164.
  - 50) Parker, H.G. and Ostrander, E.A. 2005. *Canine Genomics and Genetics: Running with the Pack*. *PLoS Genetics* 1, e58.
  - 51) Patronek, G.J., Slater, M., Marder, A., 2010. Use of a number-needed-to-ban calculation to illustrate limitations of breed-specific legislation in decreasing the risk of dog bite-related injury. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 237, 788-792.
  - 52) Plomin, R., 1983. Childhood temperament. In: Lahey, B.B., Kazdin, A.E., (ED), *Advances in Clinical Child Psychology* 6, Plenum Press, New York.
  - 53) Pritchard, J.K. and Donnelly, P. 2001. Case-control studies of association in structured or admixed populations. *Theor. Popul. Biol.* 60, 227-237.
  - 54) Roberts, T., McGreevy, P., Valenzuela, M., 2010. Human induced rotation and reorganization of the brain of domestic dogs. *PLoS ONE* 5(7): e11946. doi:10.1371/journal.pone.0011946
  - 55) Rosado, B., Garcia-Belenguer, S., León, M., Palacio, J., 2009. A comprehensive study of dog bites in Spain, 1995-2004. *Veterinary Journal* 179, 383-391.
  - 56) Rosado, B., Garcia-Belenguer, S., Leon, M., Palacio, J., 2007. Spanish dangerous animals act: Effect on the epidemiology of dog bites. *Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research* 2, 166-174.
  - 57) Ruefenacht, S., Gebhardt-Henrich, S., Miyake, T., Gaillard, C., 2002. A behaviour test on German shepherd dogs: Heritability of seven different traits. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 79, 113-132.
  - 58) Savolainen, P., Zhang, Y.p., Luo, J., Lundeberg, J., and Leitner, T. 2002. Genetic Evidence for an East Asian Origin of Domestic Dogs. *Science* 298, 1610-1613.
  - 59) *J. Vet. Behav.: Clin. Appl. Res.* 3, 97-103.
  - 60) Springer, M.S., Stanhope, M.J., Madsen, O., and de Jong, W.W. 2004. Molecules consolidate the placental mammal tree. *Trends in Ecology & Evolution* 19, 430-438.
  - 61) Sutter, N.B. and Ostrander, E.A. 2004. Dog star rising: the canine genetic system. *Nat Rev Genet* 5, 900-910.
  - 62) Sutter, N.B., Bustamante C.D., Chase K., Gray M.m., Zhao K., Zhu L., Padhukasahasram B., Karlins E., Davis, S., Jones, P.G., Quignon, P., Johnson, G.S., Parker, H.G., Fretwell, N., Mosher D.S., Lawler, D.F., Satyaraj, E., Nordberg, M., Lark, K.G., Wayne, R.K., and Ostrander, E.A. 2007. A single IGF1 allele is a major determinant of small size in dogs. *Science* 316 (No.5821), 112-115.
  - 63) Svartberg, K. 2002. Shyness-boldness predicts performance in working dogs. *Applied Animal Behaviour Science* 79, 157-174.
  - 64) Svartberg K., Tapper I., Tenrin H., Radesater T., Thorman S., 2005. Consistency of personality traits in dogs. *Animal behaviour*, 69, 283-291.
  - 65) Svartberg, K., 2006. Breed-typical behaviour in dogs - Historical remnants or recent

- constructs? Appl. Anim. Behav. Sci. 96, 293-313.
- 66) Svartberg, K. and Forkman, B. 2002. Personality traits in the domestic dog (*Canis familiaris*). Applied Animal Behaviour Science 79, 133-155.
  - 67) Takeuchi Y, Hashizume C, Chon EMH, Momozawa Y, Masuda K, Kikusui T, Mori Y. 2005. Canine tyrosine hydroxylase gene (TH) and dopamine B-hydroxylase gene (DBH): their sequences, genetic polymorphisms, and diversities among five different dog breeds. J Vet Med Sci 67, 861-867.
  - 68) Taylor, K. and Mills, D. S. 2006. The development and assessment of temperament tests for adult companion dogs. J Vet Behav: Clin Appl Res .1, 94-108.
  - 69) Tópal J, Miklósi A, Csanyi V. Dog-human relationship affects problem solving behavior in dogs. Anthrozoös 10:214-224, 1997.
  - 70) van den Berg, L., Schilder, M.B.H., Knol, B.W., 2003. Behavior genetics of canine aggression: Behavioral phenotyping of golden retrievers by means of an aggression test. Behav. Genet. 33, 469-483.
  - 71) Vincent, I.C., Leahy, R.A., 1997. Real-time non-invasive measurement of heart rate in working dogs: a technique with potential application in the objective assessment of welfare problems. Vet. J. 153, 179-184.
  - 72) Vincent, I.C., Michell, A.R., Leahy, R.A., 1993. Non-invasive measurement of arterial blood pressure in dogs: a potential indicator for the identification of stress. Res. Vet. Sci. 54, 195-201.
  - 73) Vonholdt BM, Pollinger JP, Lohmueller KE, Han E, Parker HG, Quignon P, Degenhardt JD, Boyko AR, Earl DA, Auton A, Reynolds A, Bryc K, Brisbin A, Knowles JC, Mosher DS, Spady TC, Elkahloun A, Geffen E. Pilot M, Jedrzejewski W, Greco C, Randi E, Bannasch D, Wilton A, Shearman J, Musiani M, Cargill M, Jones PG, Qian Z, Huang W, Ding Z-L, Zhang Y-P, Bustamante CD, Ostrander EA, Novembre J, Wayne RK. Genome-wide SNP and haplotype analyses reveal a rich history underlying dog domestication. Nature 2010;464(7290):898-902.
  - 74) Wayne RK. 1993. Molecular evolution of the dog family. Trends Genetics 9,216-224.
  - 75) Wayne RK, Vilà C. Phylogeny and origin of the domestic dog. In: The Genetics of the Dog, edited by A. Ruvinsky and J. Sampson, CABI International, New York, 2001:1-14.
  - 76) Wayne R. K. 2001. Consequences of domestication: morphological diversity of the dog. In: The Genetics of the Dog, edited by A. Ruvinsky and J. Sampson, CABI International, New York, 2001:43-60.
  - 77) Yokoyama JS, Chang ML, Tiira KA, Branson N, Dyer DJ, Juarbe-Diaz S, Ruhe AL, Robertson KR, Neff MW, Lohi H, Overall KL, and Hamilton SP. Genome-wide association study identifies candidate loci in canine noise phobia. Genes Brain Behav 2001; in review.



## SELEZIONE E ATTITUDINE

S. P. MARELLI, A.S., PHD, M. C. COZZI, DVM, M. POLLI, DVM, PHD

Dipartimento di Scienze Animali, Sezione di Zootecnica Veterinaria,  
Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Milano

Selezionare significa scegliere e scegliere gli accoppiamenti da effettuare significa agire direttamente sulla struttura genetica della popolazione o della specie su cui si sta lavorando, modificandola. All'origine di queste modifiche abbiamo sia eventi selettivi naturali, indipendenti dall'azione dell'uomo, che si basano sulla legge del *'survival of the fittest'*, ovvero sulla sopravvivenza del soggetto più adattato all'ambiente e quindi, più in forma e in grado di generare più discendenti, sia alla selezione artificiale operata dall'uomo (Ayala et al. 1987). La selezione artificiale così come quella naturale, quindi, agiscono modificando le frequenze geniche e genotipiche da una generazione a quella successiva, per cui i geni dei soggetti maggiormente utilizzati come riproduttori saranno trasmessi alla generazione filiale a discapito di quelli dei riproduttori meno utilizzati (Pagnacco, 2004). La selezione artificiale e quella naturale non sempre agiscono nella stessa direzione, poiché spesso si ricercano caratteristiche particolari lontane dal normotipo della specie. Nella specie *Canis familiaris* il normotipo può essere identificato nei cani pariah o *"village dog"* che vivono ai margini di molte società umane, nelle regioni povere del mondo e che morfologicamente ricordano una razza riconosciuta, il Canean dog. Nelle razze canine gli effetti della selezione effettuata dall'uomo, sono ben evidenti se si considerano le quasi 400 razze riconosciute dalla Federazione Cinologica Internazionale. Mentre gli animali da reddito sono da sempre allevati per un numero di caratteri ridotto, strettamente legato all'economia delle produzioni (litri di latte, kg di carne, numero di uova, Indice di Conversione Alimentare ecc.), gli animali da compagnia vengono selezionati in base ai dettami dello standard di razza, che descrive più o meno accuratamente, un numero di caratteri morfologici e comportamentali generalmente molto elevato. Le scelte selettive sono quindi variabili e legate alla razza in esame: più questa risulterà lontana dal normotipo della specie, maggiore sarà la pressione selettiva esercitata per ottenere le caratteristiche desiderate. Questa differenza fa sì che nell'allevamento degli animali da compagnia, il progresso genetico risulti molto più limitato rispetto agli animali da reddito (Pagnacco, 2004). La conoscenza accurata della razza oggetto di studio, in particolare, l'evoluzione subita dalla razza/popolazione da un punto di vista morfologico e comportamentale e la base genetica su cui si sta operando, sono presupposti indispensabili per la programmazione degli obiettivi di selezione. Occorre, inoltre, considerare attentamente sia il numero di animali disponibili che il numero di riproduttori scelti, la cui valutazione deve essere il più accurata possibile (Beauchamp, 2002).

Gli schemi di accoppiamento utilizzabili, ovvero l'inbreeding, il linebreeding e l'outcrossing, sono da considerarsi come gli strumenti operativi della selezione.

L'inbreeding o consanguineità si basa sull'accoppiamento fra due soggetti strettamente imparentati, generalmente primi cugini o genitori e figli o fratelli, che sono tra loro più imparentati rispetto alla media della popolazione di cui fanno parte. Questo tipo di accoppiamento, caratterizzato da livelli di consanguineità molto elevati, permette di 'fissare il tipo' molto rapidamente, favorendo l'omozigosi dei caratteri. Infatti, essendo i due riproduttori tra loro strettamente imparentati, il loro DNA presenterà delle regioni identiche.

L'accoppiamento in inbreeding può rendere evidenti anche altre informazioni non sempre favorevoli, quali disfunzioni organiche o caratteri indesiderati, che sono presenti in forma recessiva nel DNA di questi soggetti e si manifestano solo in omozigosi. Quindi, la *conditio si-*

*ne qua non* per l'accoppiamento in inbreeding è la conoscenza approfondita ed oggettiva degli antenati presenti nei pedigree dei riproduttori. Infatti, l'accoppiamento in inbreeding, aumenta la probabilità che i caratteri recessivi, comunque presenti in forma latente nella popolazione, vengano espressi e quindi può rendere evidenti alcune patologie.

Il linebreeding è una forma di inbreeding a ridotta intensità, poiché la parentela dei soggetti accoppiati non è così stretta come nel caso della consanguineità. I riproduttori accoppiati, infatti, appartengono sì alle stesse linee di sangue, ma con antenati comuni ad esempio in terza o quarta generazione. Il linebreeding, pur portando ad una fissazione dei caratteri più lenta, viene considerato un ottimo schema di accoppiamento che permette di evidenziare i pregi di soggetti presenti nel pedigree, abbassando però la probabilità di trasmettere caratteri negativi.

L'outcrossing è il sistema di accoppiamento in cui i riproduttori non sono imparentati tra loro generalmente per cinque generazioni. Purtroppo, nell'allevamento degli animali da compagnia con pedigree è molto difficile che questa condizione si verifichi poiché si lavora con linee di sangue note, spesso strettamente consanguinee. Questo metodo selettivo, viene utilizzato per aumentare la variabilità genetica in popolazioni/linee di sangue a rischio e non porta alla fissazione né di caratteri negativi né di positivi.

La selezione verso un carattere o un tipo morfologico, porta dunque alla scelta di riproduttori frequentemente imparentati tra loro, aumentando il rischio quindi di un importante e pericoloso incremento della consanguineità, specialmente dove il numero effettivo di riproduttori è limitato, come in molte razze canine. Di recente, Shinkarenko e colleghi (2010) hanno analizzato mediante marcatori microsatelliti, una popolazione di American Pitt Bull Terrier allevata in purezza. I risultati hanno evidenziato una consanguineità, valutata attraverso l'analisi dei pedigree, che in alcuni soggetti raggiungeva anche il 43.8%. Nonostante ciò, l'analisi con i marcatori microsatelliti, ha mostrato una notevole variabilità genetica (eterozigosità), attribuita dai ricercatori ad un possibile meccanismo genetico che previene l'eccesso di omozigosi.

La differenza nella trasmissione dei caratteri di tipo qualitativo rispetto a quelli di tipo quantitativo è basilare nella programmazione degli accoppiamenti. I caratteri qualitativi o Mendeliani sono quei caratteri legati all'attività di una o poche coppie di geni e sono caratterizzati da una manifestazione definibile come presenza/assenza. In pratica, sono quei caratteri per cui si parla di dominante, recessivo, portatore (es.: colore del mantello, emofilia, estensione delle pezzature) e non sono influenzati dall'ambiente.

La stragrande maggioranza dei tratti descritti negli standard di razza del cane, oggetto di selezione da parte degli allevatori però, non seguono i principi di ereditarietà mendeliani. Infatti, si tratta di caratteri quantitativi che sono codificati da più geni ed hanno un'espressione definita da una curva gaussiana o curva continua dove pochi soggetti con caratteri estremi in un senso o nell'altro, sono distribuiti nelle code della curva, mentre la maggior parte della popolazione è distribuita intorno alla media del carattere. Questi tratti sono influenzati nella loro espressione dall'ambiente e la loro ereditabilità è rappresentata dall'indice  $h^2$ , che definisce la facilità con cui i genitori trasmettono alla prole un determinato fenotipo (Pagnacco, 2004). Esempi tipici di questi caratteri sono l'altezza al garrese, i rapporti cranio/muso, la forma del cranio, la lunghezza del tronco, le proporzioni corporee, la reattività comportamentale, la displasia dell'anca etc. (Willis, 1989).

In ogni procedura di allevamento risulta fondamentale l'identificazione degli obiettivi di selezione, ovvero i caratteri che si vogliono trasmettere alle generazioni successive e in funzione dei quali valutare la qualità dei riproduttori. Nel cane, in particolare, la selezione tende ad ottenere soggetti aderenti ad uno standard di razza e quindi, morfologicamente belli, equilibrati sotto l'aspetto comportamentale e biologicamente sani. Soprattutto negli animali da compagnia la selezione dovrebbe puntare ad un equilibrio fra gli aspetti morfologico-funzionali e comportamentali, senza introdurre caratteri considerati dei difetti. Nelle scelte di selezione, quindi, deve sempre prevalere un concetto di equilibrio senza ingigantire a dismisura

un aspetto a discapito degli altri. La domesticazione è stata senz'altro il primo processo di selezione diretta, che ha portato alla comparsa di mutazioni spontanee di vario genere espresse fenotipicamente nella comparsa di diverse popolazioni canine. Lo sviluppo delle nuove tecnologie per lo studio del DNA ha permesso di approfondire gli studi sull'origine del cane domestico, aggiungendo tasselli importanti nella conoscenza genetica delle popolazioni oggetto di selezione. In particolare, il sequenziamento del genoma del cane domestico (*Canis familiaris*) e la costruzione di una mappa genetica che individui la posizione di loci e mutazioni legate a caratteri oggetto di selezione, costituisce un passaggio fondamentale nello sviluppo delle ricerche genetiche sul migliore amico dell'uomo e sull'uomo stesso. Sarà così possibile ottenere importanti informazioni sull'evoluzione delle razze canine esistenti che mostrano grande variabilità fenotipica per le caratteristiche morfologiche, fisiologiche e comportamentali (Lindblad-Toh et al., 2005).

I reperti archeologici non permettono di stabilire se il cane domestico sia derivato da una o più popolazioni di lupi (*Canis lupus*) domesticate in tempi differenti. D'altra parte ci sono prove che il cane sia stato domesticato in più centri di domesticazione (Vilà et al., 1997). Infatti, durante la maggior parte del tardo Pleistocene uomini e lupi hanno condiviso un'ampia area geografica, rendendo possibili eventi di domesticazione indipendenti seguiti da ibridazioni occasionali con popolazioni di lupo selvatiche. L'estrema diversità morfologica esistente tra le varie razze e popolazioni canine già durante le prime fasi della domesticazione suggerisce quindi un'eredità genetica variegata. In un lavoro del 1997, Vilà e colleghi hanno confrontato le sequenze di DNA mitocondriale di 162 lupi provenienti da 27 diverse regioni, 140 cani domestici in rappresentanza di 67 razze canine e alcuni coyote. I risultati hanno dimostrato che le sequenze dei lupi e dei cani presentavano poche differenze, supportando l'ipotesi che i lupi possano essere gli antenati dei cani. Analizzando le divergenze fra le sequenze, è stato evidenziato come le maggiori differenze si riscontrino fra lupo e coyote, mentre le differenze fra le sequenze di cane e lupo sono risultate molto inferiori. Tutte le razze canine, eccetto un unico gruppo, condividevano antenati comuni coi lupi. I reperti fossili, hanno poi dimostrato che il lupo si separò geneticamente dal coyote circa 1.000.000 di anni fa. Sulla base dell'analisi genetica gli autori, ipotizzano che la separazione del cane domestico dal lupo, possa essere avvenuta circa 135.000 anni fa, nonostante siano stati individuati resti fossili di ossa di lupo assieme a resti di ominidi, risalenti a 400.000 anni fa (Medio Pleistocene). La discrepanza potrebbe essere spiegata con la somiglianza morfologica tra i lupi e i primi cani addomesticati. Probabilmente, il passaggio avvenuto circa 10.000-15.000 anni fa, da una società nomade e prevalentemente dedicata alla caccia ad una più stanziale e dedicata all'agricoltura, impose nuovi obiettivi selettivi e, quindi, una maggiore differenziazione del cane dal suo antico antenato. In ogni caso, è stato evidenziato come anche dopo la separazione delle due specie, siano proseguiti i meticciami tra cani e lupi selvatici consentendo un abbondante scambio genetico. I soggetti derivati da tali accoppiamenti, hanno fornito il materiale genetico grezzo su cui poi è stata effettuata la selezione artificiale operata dall'uomo, che ha portato all'estrema varietà di razze e di fenotipi del cane domestico attuale.

Il cane è, quindi, un esempio lampante degli effetti della domesticazione sulla differenziazione genetica delle razze, anche se i processi evolutivisti che hanno portato alla nascita di questa variabilità sono perlopiù scarsamente conosciuti. Lo sviluppo di nuove tecnologie volte allo studio del genoma, ha facilitato la conoscenza del processo storico e genetico che ha caratterizzato la rapida evoluzione fenotipica derivata dal processo di domesticazione. Per comprendere meglio il contesto geografico ed evolutivistico della differenziazione fenotipica VonHoldt e colleghi (2010) hanno analizzato da 48.000 mutazioni puntiformi o SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms*) in un gruppo di 912 cani appartenenti a 85 razze e 225 lupi grigi, ritenuti gli antenati del cane domestico, appartenenti a 11 popolazioni distribuite in vari continenti. I risultati hanno mostrato la separazione genetica fra cani e lupi, con un limitato

numero di razze in cui è presente interscambio di materiale genetico tra le due specie. Ulteriori analisi, hanno rivelato che razze considerate 'antiche' come il Basenji, il Levriero Afgano, il Samoiedo, il Saluki, il Canaan Dog, il New Guinea Singing Dog, il Dingo (*Canis lupus dingo*), il Chow Chow, lo Shar Pei, l'Akita, l'Alaskan Malamute, il Siberian Husky e l'American Eskimo Dog sono altamente divergenti rispetto alle altre razze canine, definite 'moderne'. Infatti, secondo le informazioni storiche queste razze avrebbero un'origine antecedente a 500 anni fa. Le razze odierne, quindi, sarebbero il prodotto della selezione operata in epoca Vittoriana (1830-1900) e la completa assenza delle caratteristiche lupine è sicuramente dovuta ai rigidi e severi schemi selettivi applicati. E' stato inoltre rilevato come le razze del vicino e medio-oriente siano quelle che più si avvicinano alle popolazioni lupine. Infatti sia l'Akita che il Chow Chow hanno dimostrato di essere geneticamente vicini al lupo cinese, mentre il Basenji, più di ogni altra razza canina, presenta caratteristiche genetiche comuni con il lupo medio-orientale. Secondo VonHoldt e colleghi (2010) si possono identificare tre gruppi ben distinti rispetto alle razze "moderne": un gruppo asiatico che comprende il Dingo, il New Guinea Singing Dog, il Chow Chow; un gruppo medio-orientale: che include Saluki e Levriero Afgano; un gruppo nordico: che comprende l'Alaskan Malamute e il Siberian Husky. Il Basenji, invece, risulta la razza che più si discosta dalle razze cosiddette 'moderne'. In ogni caso, il processo evolutivo che sta all'origine delle differenze fenotipico-funzionali fra le razze è ancora oscuro. Molte razze pure, infatti, sono originate da accoppiamenti tra popolazioni genealogicamente o geograficamente distinte. Fra le razze moderne, spesso è possibile distinguere gruppi genetici che sono stati selezionati in base all'equazione fenotipo-funzione, come ad esempio lo Spaniel, i Segugi, i Molossoidi, i piccoli Terrier, i Retriever, i Cani da Pastore ed i Levrieri. La vicinanza genetica di molte razze sottolinea lo sviluppo recente delle stesse, per lo più nel XIX secolo. In particolare, i Cani da Pastore conduttori e le razze nane da compagnia risultano geneticamente vicine ad un gran numero di razze a riprova degli incroci tra le differenti linee e popolazioni. Le razze nane da compagnia, mostrano un assetto genetico che testimonia un'origine a volte dovuta all'accoppiamento tra soggetti di statura molto ridotta (toy o nana) con soggetti di maggior dimensione.

Possiamo quindi affermare che i processi evolutivi hanno portato ad una differenziazione genetica nella specie *Canis familiaris*, che si manifesta su tre livelli. Il primo livello è la differenza genetica fra le razze, che permette sempre di ricondurre un soggetto alla razza di appartenenza, ed è legata al numero limitato di fondatori/capostipiti per una specifica razza, con conseguenti elevati livelli di consanguineità e un numero effettivo di riproduttori ridotto. Il secondo livello è il raggruppamento delle razze su base morfologica e attitudinale, dovuta ad incroci ad hoc effettuati dagli allevatori allo scopo di introdurre caratteristiche desiderate o migliorare le abilità dei soggetti prodotti. Infatti, alcune ricerche genetiche riportano che caratteri quali il colore e la tessitura del mantello, la taglia, la lunghezza relativa degli arti e le proporzioni corporee in differenti razze canine, sono dovute a mutazioni in geni condivisi a largo effetto fenotipico: considerando ad esempio gli arti corti, 19 razze condividono, un "retrogene" *Fgf4* un gene duplicato, che causa la sovrapproduzione di una proteina, la FGF4. Tale proteina altera la crescita delle ossa durante lo sviluppo embrionale e causerebbe anche, la crescita rallentata delle zampe di bassotti e razze similari (Parker et al 2009). Se il fenotipo mutato viene fissato nella popolazione, sarà possibile attraverso l'incrocio o 'out cross', introdurlo in un'altra razza, aumentando così la differenziazione fenotipica. Questo processo molto utilizzato dagli allevatori, ha portato alla variabilità fenotipica presente oggi nella specie canina, che non trova riscontro in nessun'altra specie domestica. Infatti, il cane è stato selezionato non solo per la sua bellezza, ma anche per compiti specifici quali per esempio, la difesa, la guardia, la conduzione del bestiame, il riporto, la caccia, la velocità e la compagnia. Il terzo livello è la suddivisione delle razze in 'moderne' e 'antiche': se per le prime la selezione genetica è stata operata soprattutto negli ultimi secoli, per le seconde il contributo

delle popolazioni lupine all'origine genetica del cane domestico è legato soprattutto alle razze medio-orientali o europee, in accordo con, i ritrovamenti archeologici di resti di cane di 12.000 anni fa in Medio Oriente, 31.000 anni fa in Belgio e 15.000 anni fa in Russia. In particolare, come testimoniato da più autori, lo scambio genetico tra lupo e cane agli albori del processo di domesticazione è da considerarsi un processo dinamico, che ha permesso di trasferire caratteristiche come il mantello di colore nero nell'antenato selvatico, il lupo grigio.

Lo studio delle popolazioni semiselvatiche di "cani de villaggi", chiamati anche "*pariah dog*", può fornire dati importanti per stabilire i tempi e la distribuzione geografica del processo di domesticazione. In un recente studio Bokyo e colleghi (2009) hanno valutato, mediante l'analisi di diversi marcatori genetici (DNA mitocondriale, SNPs, microsatelliti), la diversità genetica di 318 "cani dei villaggi" provenienti da 7 differenti regioni africane. Al fine di verificare la vicinanza genetica con razze di supposta origine africana, sono stati aggiunti all'analisi anche campioni di soggetti appartenenti alle razze Levriero Afgano, Basenji, Pharaoh Hound, Rhodesian Ridgeback, Saluki, oltre a cani di strada portoricani e meticci di origine statunitense. Le analisi hanno confermato che i "cani dei villaggi" africani presentano un'origine genetica diversa rispetto a quella dei meticci e delle razze non africane. Alcuni soggetti però, sono risultati geneticamente affini ai cani portoricani o ai meticci statunitensi dimostrando le diverse origini dei cani africani, suddivisibile fra cani indigeni e cani discendenti da accoppiamenti con cani stranieri. Inoltre, razze pure considerate di origine africana, come il Rhodesian Ridgeback e il Pharaoh Hound sono risultate essere geneticamente più vicine alle razze non native africane che ai "cani dei villaggi" studiati, dimostrando così, la loro origine prevalentemente non africana. Infine, è stata evidenziata la vicinanza genetica fra i "cani dei villaggi" asiatici e africani, sottolineando la probabile origine asiatica del cane domestico.

Il rapido sviluppo della genomica e delle tecniche di genetica molecolare consentirà di comprendere sempre più intimamente i meccanismi che controllano geneticamente i fenotipi comportamentali. Il comportamento, infatti, come altri caratteri poligenici mostra estrema flessibilità e variabilità fenotipica (Boake et al., 2002).

La continua evoluzione delle tecnologie molecolari, permetterà di ottenere una mappa genetica che, identificando i meccanismi genetici alla base di una rapida diversificazione fenotipica ed i loci coinvolti in tratti di interesse per la selezione canina, permetterà in futuro di effettuare una selezione che sottolinei sempre di più le differenze razza-specifiche nel comportamento, nella morfologia e nella resistenza alle malattie. Infine, una comprensione più profonda della selezione artificiale nei cani o in altre specie domestiche, potrà chiarire i meccanismi evolutivi nelle popolazioni naturali e permettere di comprendere meglio le differenze fra l'azione della selezione artificiale e di quella naturale sulla storia evolutiva delle popolazioni (Akey et al., 2010).

Nel lungo processo di selezione che ha accompagnato la domesticazione del cane, il contatto continuo tra uomo e cane ha richiesto ad entrambi un notevole sforzo di comprensione reciproca. La trasmissione e la ricezione di segnali è importante per la socialità e si esplica attraverso la comunicazione di un'informazione sullo stato emotivo e sulle intenzioni degli individui. Il repertorio dei segnali all'interno di una specie, è influenzato sia dalla variabilità comportamentale, che dalla morfologia dei soggetti ad essa appartenenti (Endler 1992, 1993). La domesticazione, attraverso la selezione artificiale, ha introdotto nella specie canina modifiche a livello di comportamento, di fisiologia e di morfologia. In particolare, la selezione per le caratteristiche comportamentali è, in realtà una selezione indiretta, che si applica a caratteristiche morfologiche come la forma e le dimensioni relative delle orecchie, della coda e le dimensioni corporee (Belyaev, 1979; Trut, 1999). Trut e colleghi (2006) affermano infatti, che le basi genetiche del comportamento siano il risultato della "cosegregazione del comportamento con la morfologia".

L'enorme variabilità morfologica dei cani domestici può aver alterato l'abilità comunica-

tiva intraspecifica del cane. E' facile intuire le differenze di mobilità e quindi di capacità comunicativa fra le orecchie lunghe e pesanti del Basset Hound o di quelle piccole e a rosa del Bull Dog Inglese rispetto a quelle erette e mobilissime del lupo (McGreevy e Nicholas, 1999; Prince, 1984). Alcuni ricercatori hanno ipotizzato che il declino così evidente nelle capacità comunicative visive ad esempio nelle razze in cui gli occhi sono nascosti da abbondanti ciuffi di pelo, abbia portato all'abbandono della comunicazione visiva in favore di quella olfattiva o uditiva (Bradshaw and Brown, 1990; Kerswell K.J. et al 2010).

L'attitudine di una razza è la capacità di adattarsi a determinati ambienti, funzioni e stili di vita. La ricerca di soggetti sempre più in grado di svolgere determinati compiti, ha portato alla fissazione diretta ed indiretta di particolari caratteristiche morfologiche e comportamentali.

Goodwin e colleghi (1997) hanno dimostrato come la morfologia delle varie razze canine influenzi direttamente l'abilità comunicativa ed hanno stabilito una correlazione indiretta tra la capacità comunicativa, il livello di pedomorfosi (neotenia) ed il mantenimento in età delle caratteristiche dei cuccioli (es. cranio arrotondato, orecchie pendenti, occhi grandi e rotondi, code arriciate sul dorso). I ricercatori, infatti, hanno provato che più la razza è morfologicamente sovrapponibile ad un lupo adulto (basso livello di pedomorfosi), maggiore sarà il numero di segnali di comunicazione simili a quelli dell'antenato selvatico. L'enorme differenza morfologica che intercorre tra le varie razze canine, ha portato quindi ad una differente capacità comunicativa. Infatti la morfologia, come ad esempio la lunghezza del muso, influenzerà la capacità comunicativa per quanto riguarda il tipo, la frequenza di utilizzo e la risposta ai segnali inviati o ricevuti dagli altri cani.

La selezione operata dall'uomo ha portato allo sviluppo di differenze marcate non solo nel fenotipo ma, considerando il concetto di "*form and function*" che sta alla base della selezione degli animali domestici, anche nelle strutture anatomiche razza-specifiche. Confrontando, infatti, le caratteristiche della struttura ossea di Pitbull e Greyhound, Kemp e colleghi (2005) hanno affermato che la selezione per la corsa del Greyhound ha portato ad avere soggetti con omero, radio, femore e tibia da 1.5 a 2.4 volte più resistenti alle sollecitazioni della corsa rispetto al Pitbull. Le due razze selezionate per obiettivi differenti quali la corsa e la presa, rendono evidenti nelle caratteristiche ossee, il risultato delle selezione artificiale che ne ha ottimizzato le performance, scegliendo Greyhound con ossa lunghe ed elastiche e, viceversa, Pitbull con ossa corte ma molto resistenti alla frattura.

La selezione artificiale nel cane, ha portato non solo ad una elevata variabilità morfologica, ma anche a differenze nella personalità, nei ritmi biologici e nei tratti metabolici. Careau e colleghi (2010) hanno evidenziato come le caratteristiche proattive della personalità (elevati livelli di attività, comportamento ardito e aggressività) siano correlate ad uno stile di "vita veloce" (maggiore velocità di crescita, mortalità precoce e maggiore dispendio di energia). In particolare, gli effetti della domesticazione intesi come scelte selettive operate sulla variabilità comportamentale, sono correlati alle caratteristiche biologiche e metaboliche. Infatti, i soggetti caratterizzati da un comportamento obbediente, docile e timido tendono a vivere mediamente più a lungo di soggetti appartenenti a razze disobbedienti e spavalde. Le razze aggressive, inoltre, hanno più elevate richieste energetiche rispetto a quelle non aggressive. Secondo i ricercatori, i risultati ottenuti rappresentano da un lato le preferenze dei selezionatori per alcune combinazioni di caratteristiche e dall'altro sono il risultato della selezione artificiale operata sulla personalità dei cani, sottolineando così la presenza di caratteri comportamentali, metabolici e biologici specifici.

Gacsi e colleghi (2009) partendo dal presupposto che le similarità funzionali nel comportamento socio-cognitivo di cani ed umani, emergono come conseguenza di una comune pressione selettiva ambientale, hanno valutato gli effetti della selezione sulle capacità di cooperazione e attenzione nei cani. In particolare, hanno valutato l'effetto della domesticazione sui cani, analizzando la selezione verso due fattori controllati geneticamente come la cooperazio-

ne visiva e l'attenzione, che potrebbero aver contribuito ad una migliore comprensione degli schemi comunicativi umani. La ricerca articolata in due studi, prevedeva una prima prova in cui tre gruppi di cani, venivano sottoposti ad un test di scelta a due vie, in cui veniva indicato mediante un gesto un oggetto e poi venivano valutate le risposte degli animali. Ogni gruppo era costituito da 30 soggetti: il primo gruppo comprendeva soggetti appartenenti a 21 razze che normalmente, svolgono lavori visivamente indipendenti dal conduttore (es. terrier); il secondo gruppo era costituito da soggetti appartenenti a 22 razze che invece svolgono lavori cooperativi in collaborazione ed in continuo contatto visivo con il conduttore (es. pastori) ed il terzo gruppo era costituito da meticci.

I risultati hanno evidenziato come i cani lavoratori cooperativi, erano in grado di interpretare le indicazioni date dalla gestualità umana in modo più efficace rispetto sia ai cani lavoratori indipendenti che ai meticci.

Nel secondo studio lo stesso gruppo di ricercatori, ha valutato le risposte allo stesso test di razze brachicefale, ovvero razze ad alto indice cefalico, con muso corto, cranio largo e occhi piazzati più frontalmente e razze dolicocefale, ovvero razze a basso indice cefalico, con muso lungo, cranio stretto e occhi piazzati più lateralmente. Ogni gruppo era costituito da 25 soggetti appartenenti a 14 razze. Il risultato della sperimentazione ha evidenziato come i soggetti brachicefali abbiano ottenuto punteggi migliori dei soggetti dolicocefali.

Gli stereotipi fenotipici per conformazione e comportamento sono caratteri poligenici, selezionati secondo precisi obiettivi di allevamento e sono strettamente legati allo standard di razza. Jones e colleghi (2008) hanno analizzato, mediante SNPs, il DNA genomico di cani appartenenti a 148 razze alla ricerca di associazioni con fenotipi specifici per razza. Mentre per quanto riguarda la taglia sono stati identificati geni candidati e sei QTL su cinque cromosomi e l'analisi per i fenotipi specifici per razza, anche sotto forte pressione selettiva, ha permesso di identificare molti altri loci, la ricerca di geni associati a tratti comportamentali come l'attitudine alla conduzione del gregge, alla ferma, alla spavalderia e all'addestrabilità, ha dato risultati meno chiari. Per quanto riguarda la longevità, che è un carattere selezionato indirettamente essendo inversamente proporzionale alla taglia dell'animale, sono stati invece identificati 4 loci associati.

Un interessante lavoro di Huston e colleghi (2010) getta le basi per identificare geni associati alle attitudini sportive e atletiche dell'Alaskan Sled Dog. Questa razza, infatti, è stata selezionata nel tempo con il solo scopo di creare soggetti atti alla corsa. Molte razze riconosciute sono state incrociate con le popolazioni di Sled dog per esaltare le performance di gara. Gli autori grazie ai marcatori molecolari, in particolare i microsatelliti del DNA, hanno cercato di individuare l'originario nucleo della popolazione da cui sono state sviluppate le diverse linee della razza, cercando di determinare se i comportamenti relativi alle performance sportive potessero essere specifici per la razza.

Lo studio ha messo in evidenza che l'Alaskan Sled Dog ha mantenuto una sua tipicità, come una "firma" genetica, che consente di individuare i cani allenati per lo "sprint" rispetto a quelli allenati per la "lunga distanza". Inoltre, risulta chiaramente identificabile il contributo di alcune razze nordiche. In particolare, il Siberian Husky e l'Alaskan Malamute negli Alaskan Sled Dog allenati per la resistenza e la corsa su lunghe distanze, mentre il contributo del Pointer e del Saluki è evidente nei soggetti da "sprint". Infine, sembra che si possa attribuire al contributo del Pastore dell'Anatolia l'influenza positiva sull'etica lavorativa.

Schmutz e Schmutz (1998) hanno invece analizzato l'ereditabilità dell'attitudine naturale alla caccia alla selvaggina da penna. Infatti, questa capacità è molto importante nell'attività venatoria e molte razze da caccia vengono allevate e selezionate proprio per questa attitudine. L'applicazione del test per valutare l'attitudine venatoria naturale dei cani stilato dalla North American Versatile Hunting Dog Association (NAVHDA) alla selezione dei cani di razza Grande Munsterlander, ha portato a notevoli miglioramenti genetici.

Il cane è da sempre ritenuto il miglior amico dell'uomo, quindi la funzione della semplice compagnia è importantissima. Molte sono le razze riconosciute che possiedono strumenti per comunicare con l'essere umano. Alcuni di questi sono innati e risalgono ai tempi della prima domesticazione, mentre altri sono modulati da processi di apprendimento specifici. Jakovcovic e colleghi (2010) hanno studiato l'abilità comunicativa nei confronti dell'uomo delle razze Pastore tedesco, Retriever (Labrador e Golden) e Barbone, in caso di una situazione conflittuale come la presenza di cibo non immediatamente raggiungibile da parte dell'animale. La valutazione si basava sul tempo impiegato dall'animale per distogliere lo sguardo dal viso umano. Fra le tre razze, il Retriever manteneva lo sguardo più a lungo delle altre razze, sottolineando le differenze razza-specifiche esistenti in questa situazione comunicativa.

I programmi di selezione finalizzati al miglioramento delle caratteristiche morfologiche e comportamentali delle varie razze canine non possono prescindere da un'accurata valutazione del fenotipo e dalla conoscenza precisa e oggettiva dei processi di trasmissione genetica, che sottostanno al passaggio dei caratteri desiderati da una generazione alla successiva. È importante inoltre sottolineare come l'effetto dell'ambiente sia da tenere sempre presente in ogni valutazione. Nell'allevamento degli animali da compagnia, infatti, le variabili ambientali sono decisamente un aspetto di particolare importanza, essendo gli ambienti molto differenti e generalmente poco standardizzati, poiché si tratta spesso di abitazioni private.

Liinamo e colleghi (1997) in un'interessante ricerca sul Finnish Hound hanno considerato, al fine di valutare i parametri genetici ed ambientali, per la misura delle performance di caccia secondo un preciso modello quantitativo, i punteggi ottenuti da 5.666 cani durante 4 anni consecutivi di prove di caccia, per un totale 28.971 risultati di *field trial*. L'analisi dei risultati ha mostrato che le performance venatorie non sono influenzate dal sesso, mentre sono legate all'esperienza. Infatti, i soggetti più anziani e con maggiore esperienza hanno mostrato i risultati migliori. Anche l'ambiente, in particolare la zona di caccia, il periodo di caccia (migliori performance sulla neve che sul terreno nudo) e la loro interazione, hanno mostrato un effetto significativo sulle performance dei cani. La stima dell'ereditabilità per i 28 caratteri presi in considerazione, ha mostrato valori medio bassi, mai superiori allo 0.15. Per questo motivo si è preferito abbandonare il test di performance e valutare i soggetti attraverso un test di tipo BLUP (Best Linear Unbiased Prediction). In un altro lavoro Brenoe e colleghi (2002) hanno valutato le performance venatorie (numero di uccelli trovati durante la prova) e la selezione per il desiderio di caccia, la velocità, lo stile, l'indipendenza, l'ampiezza della cerca, l'abilità a lavorare in campo e la cooperazione in tre razze canine: Bracco tedesco a pelo corto, Bracco tedesco a pelo duro, Epagneul Breton. Anche in questo caso l'ereditabilità dei tratti valutati non è risultata elevata poiché variava da 0.06 a 0.28. Nonostante questo, gli autori hanno considerato valido il metodo del performance test per programmare piani di selezione.

La selezione per attitudini coinvolge anche i soggetti appartenenti a razze sottoposte a prove da utilità e difesa. Courreau e Langlois (2005) hanno condotto prove di performance test su cani da Pastore Belga prendendo in considerazione 8 prove di abilità: salto, "seguire al piede", "portare un oggetto", attaccare, sorvegliare, obbedienza, morso, e "successo complessivo". L'ereditabilità calcolata ha mostrato valori medi (0.13-0.18) per tutti i tratti considerati, tranne che per "seguire al piede" e "successo complessivo" che hanno presentato valori molto bassi di 0.07. In questo caso, sono state individuate sia un'influenza del sesso che della varietà della razza, infatti i maschi hanno totalizzato punteggi migliori rispetto alle femmine e la varietà a pelo corto fulvo carbonato, il Pastore Belga Malinois, ha fatto registrare le migliori performance.

In conclusione: l'accurato studio della razza su cui si intende operare una scelta selettiva, la conoscenza precisa della storia intesa come flusso genetico e l'applicazione corretta dei principi matematici del miglioramento genetico, possono portare a risultati oggettivamente positivi nei vari campi in cui il cane domestico viene impiegato (compagnia, lavoro, attività venatoria, ecc.). La selezione comunque, non può prescindere da un'accurata, precisa e mul-

tidisciplinare valutazione del fenotipo morfologico e comportamentale. Le nuove tecnologie genetiche possono fornire un utile supporto alla selezione, permettendo di comprendere meglio i meccanismi evolutivi alla base dell'attuale assetto genetico delle razze/popolazioni e chiarendo gli aspetti biomolecolari e fisiologici delle performance dei nostri cani. Da decine di migliaia di anni l'uomo e la natura stanno agendo sulla selezione del cane favorendone l'adattamento a determinati compiti e stili di vita, modificando sia le attitudini che i comportamenti del migliore e più fedele amico dell'uomo.

## BIBLIOGRAFIA

- 1) Akey J.M., Ruhe A.L., Akey D.T., Wong A.K., Connelly C.F., Madeoy J., Nicholas T.J., Neff M.W. (2010). Tracking footprints of artificial selection in the dog genome. *PNAS*, 19; 107(3): 1160-5.
- 2) Ayala F.J., Kiger J.A. jr. (1987). *Genetica moderna*, Zanichelli, Bologna, Italia.
- 3) Beauchamp R. (2002). *Breeding dogs for dummies*, Wiley Publishing Inc., New York, N.Y.
- 4) Belyaev D. K. (1979). Destabilizing selection as a factor in domestication. *The Journal of Heredity* 70: 301-308
- 5) Boake C.R.B., Arnold S.J., Breden F., Meffert L.M., Ritchie M.G., Taylor B.J., Wolf J.B., Moore A.J. (2002). Genetic tools for studying adaptation and the evolution behaviour. *The American naturalist*, 160 suppl.: 143-159.
- 6) Boyko A.R., Boyko R.H., Boyko C.M., Parker H.G., Castelhamo M., Corey L., Degenhardt J.D., Auton A., Hedimbi M., Kityo R., Ostrander E.A., Schoenebeck J., Todhunter R.J., Jones P., Bustamante C.D. (2009). Complex population structure in African village dogs and its implications for inferring dog domestication history. *PNAS*, 8; 106(33):13903-8
- 7) Bradshaw, J.W.S., Brown, S.L., 1990. Behavioural adaptations of dogs to domestication, In: Burger, I.H. (Ed.), *Pets, Benefits and Practice*, Waltham No. 20 ed., *J. Small Anim. Pract.*, 31 Suppl. 18-24
- 8) Careau V., Reale D., Humphries M.M., Thomas D.W. (2010). The pace of life under artificial selection: Personality, energy expenditure, and longevity are correlated in domestic dogs. *American naturalist*, 175(6): 753-758.
- 9) Chapman AB, eds., 1985. *General and Quantitative Genetics*, World Animal Science, A, basic information, Elsevier Science Publisher B.V., Amsterdam-Oxford-New York-Tokio.
- 10) Clutton-Brock J., (1995). Origins of the dog: domestication and early history. in *The domestic dog, its evolution, behaviour and interaction with people*, Serpell J. ed., Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- 11) Endler J.A., 1992. Signal, signal conditions, and the direction of evolution. *Am. Nat.* 139, S125-S153.
- 12) Endler J.A., 1993. Some general comments on the evolution and design of animal communication systems. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. Ser. B: Biol. Sci.* 340, 215-225.
- 13) Gacsi M., McGreevy P., Kara E., Miklosi A. (2009). Effects of selection for cooperation and attention in dogs. *Behavioral and Brain Functions*, 24 (5): 31, 1-8.
- 14) Goodwin, D., Bradshaw, J.W.S., Wickens, S.M., 1997. Paedomorphosis affects agonistic visual signals of domestic dog. *Anim. Behav.* 53: 297-304.
- 15) Huson H.J., Parker H.G., Runstander J., Ostrander E.A. (2010). A genetic dissection of breed composition and performance enhancement in the Alaskan sled dog. *BMC genetics*, 22 (11): 71.
- 16) Hutt FB, (1985). *Genetica Animale*, Edi-Ermes, Milano, Italia.
- 17) Jacovcevic A., Elgier A.M., Mustaca A.E., Bentosela M. (2010). Breed differences in dogs' (*Canis familiaris*) gaze to the human face. *Behavioural processes*, 84: 602-607.

- 18) Jones P., Chase K., Martin A., Davern P., Ostrander E.A., Lark K.G. (2008). Single-Nucleotide-Polymorphism-based association mapping of dog stereotypes. *Genetics*, 179: 1033-1044.
- 19) Kemp T.J., Bachus K.N., Nairn J.A., Carrier D.R. (2005). Functional trade-offs in the limb bones of dogs selected for running versus fighting. *J. Experimental Biology* 208: 3475-3482.
- 20) Kerswell K.J., Butler K.L., Bennet P., Hemsworth P.H. (2010). The relationships between morphological features and social signaling behaviours in juvenile dogs: the effect of early experience with dogs of different morphotypes. *Behavioural processes*. 85: 1-7.
- 21) Lindblad-Toh K., Wade C.M., Mikkelsen T.S., Karlsson E.K., Jaffe D.B., Kamal M., Clamp M., Chang J.L., Kulbokas E.J. III, Zody M.C., Mauceli E., Xie X., Breen M., Wayne R.K., Ostrander E.A., Ponting C.P., Galibert F., Smith D.R., DeJong P.G., Kirkness E., Alvarez P., Biagi T., Brockman W., Butler J., Chin C., Cook A., Cuff J., Daly M.J., DeCaprio D., Gnerre S., Grabherr M., Kellis M., Kleber M., Bardeleben C., Goodstadt L., Heger A., Hitte C., Kim L., Koepfli K., Parker H.G., Pollinger J.P., Searle S.M.J., Sutter N.B., Thomas R., Webber C., Broad Institute Genome Sequencing Platform, Lander E.S. (2005). Genome sequence, comparative analysis and haplotype structure of the domestic dog. *Nature* 438/8: 803-819.
- 22) McGreevy, P.D., Nicholas, F.W., 1999. Some practical solutions to welfare problems in dog breeding. *Anim.Welf.* 8, 329–341. Pagnacco G. (2004). *Genetica animale applicata*, Casa Editrice Ambrosiana, Milano, Italia.
- 23) Parker H.G., VonHoldt B.M., Quignon P., Margulies E.H., Shao S., Mosher D.S., Spady T.C., Elkahoul A., Cargill M., Jones P.G., Maslen C.L., Acland G.M., Sutter N.B., Kuroki K., Bustamante C.D., Wayne R.K., Ostrander E.A. (2009). An expressed *Fgf4* retrogene is associated with breed-defining chondrodysplasia in domestic dogs. *Science*, 325: 995-998.
- 24) Price, E.O., 1984. Behavioral aspects of animal domestication. *Q. Rev. Biol.* 59, 1–32. Schmutz S.M., Schmutz J.K., (1998), Heritability estimates of behaviors associated with hunting in dogs. *J. of Heredity* 89(3): 233-237.
- 25) Shinkarenko L.N., Guliakova O.G., Malienko V.A., Melnychuk S.D., Spirydonov V.G. (2010). Analysis of genetic variability in American Pit Bull terrier breed of dogs with a high inbreeding level using microsatellite markers. *Cytology and genetics*, 44(4): 206-211.
- 26) Trut L.N. (1999). Early canid domestication: The farm-fox experiment. *American Scientist*, 87: 160-169.
- 27) Trut, L.N., Kharlamova, A.V., Kukekova, A.V., Acland, G.M., Carrier, D.R., Chase, K., Lark, K.G., 2006. Morphology and behavior: are they coupled at the genome level? In: Ostrander, E.A., Giger, U., Lindblad-Toh, K. (Eds.), *The Dog and its Genome*. ColdSpring Harbor Laboratory Press, New York, NY, USA.
- 28) Vilà C., Maldonado J.E., Wayne R.K. (1999). Phylogenetic relationships, evolution, and genetic diversity of the domestic dog. *J. of Heredity*, 90 (1): 71-77.
- 29) Vilà C., Savolainen P., Maldonado J.E., Amorim I.R., Rice J.E., Honeycutt R.L., Crandall K.A., Lundeberg J., Wayne R.K., (1997). Multiple and ancient origins of the domestic dog. *Science*, 276: 1687-1689.
- 30) VonHoldt B.M., Pollinger J.P., Lohmueller K.E., Han E., Parker H.G., Quignon P., Degenhardt J.D., Boyko A.R., Earl D.A., Auton A., Reynolds A., Bryc K., Brisbin A., Knowles J.C., Mosher D.S., Spady T.C., Elkahoul A., Geffen E., Pilot M., Jedrzejewski W., Greco C., Ettore Randi, Bannasch D., Wilton A., Shearman J., Musiani M., Cargill M., Jones P.G., Qian Z., Huang W., Ding Z., Zhang Y., Bustamante C.D., Ostrander E.A., Novembre J., Wayne R.K. (2010). Genome-wide SNP and haplotype analyses reveal a rich history underlying dog domestication. *Nature*, 464/8: 898-903.
- 31) Willis M.B. (1989). *Genetics of the dog*, Howell Book House, New York, N.Y.

# GENETICA, PREVENZIONE E DIAGNOSI MOLECOLARE DELLE PRINCIPALI MALATTIE EREDITARIE DEL GATTO

M. LONGERI, S. BOCCALETTI, M. POLLI

Università degli studi di Milano, Dipartimento di Scienze Animali,  
Facoltà di Medicina Veterinaria, Vetogene Lab

## INTRODUZIONE

Oggi i gatti rappresentano uno degli animali domestici più popolari al mondo.

In Italia esistono centinaia di allevamenti e decine di club di razza, ognuno dei quali si appoggia e collabora con diverse associazioni feline nazionali. Tra queste l'Associazione Nazionale Felina Italiana ([www.anfitalia.it](http://www.anfitalia.it)), l'unica riconosciuta dal Ministero delle Politiche Agricole e Forestali, aderente all'organismo internazionale Federation Internationale Feline - F.I.Fe. (con sede in Lussemburgo è la più grande al mondo come territorialità e la seconda per numero di pedigree rilasciati), la Federazione Italiana Associazioni Feline ([www.fiafonline.it](http://www.fiafonline.it)), l'Associazioni FELine Federate (<http://www.afefonline.it>) e l'Associazione Gatti d'Italia ([gattiditalia.it](http://gattiditalia.it)) che invece aderiscono all'organismo internazionale World Cat Federation, con sede in Germania.

## PRINCIPALI APPLICAZIONI DELLE TECNICHE DEL DNA NEL GATTO

In Italia il crescente interesse verso il gatto, animale dal fenotipo attrattivo, dalla gestione meno impegnativa rispetto al cane, dalla robustezza fisica e dalla molto soddisfacente interazione con l'uomo, ha determinato una continua espansione dell'allevamento felino. La crescita dell'interesse verso questo settore, da parte di allevatori, singoli proprietari, veterinari, ha comportato una serie di effetti e ricadute in campo economico, zootecnico e sociologico. Sotto il profilo dell'indirizzo allevatorio, l'aumento della richiesta, o semplicemente la passione, per gatti di razza con caratteristiche fenotipiche precise, ha spinto la maggior parte degli allevatori a sfruttare il più possibile, come riproduttori, gatti con un fenotipo di alta qualità, adatti alla competizione nelle mostre e conformi ai rigorosi standard di razza, forzandoli ad accoppiamenti *inbreed* per fissare rapidamente nella progenie i tratti desiderati.

Oggi sono presenti in Italia e nel mondo molte razze pure con fenotipi e mantelli anche molto diversi: dal gatto Sphynx senza pelo al Japanese Bobtail a coda corta, dal Certosino a mantello unico uniforme al Maine Coon dalle ampie possibilità cromatiche, dall'Orientale Policocefalo al Persiano Brachicefalo. Tuttavia gli studi di genetica sul gatto, condotti fin'ora sfruttando la variabilità dei loci microsatelliti (vedere articolo del presente volume "Genetica, prevenzione e diagnosi molecolare delle principali malattie ereditarie del cane") hanno evidenziato come la recente rapida formazione delle razze pure domestiche abbia portato a una perdita della variabilità genetica all'interno delle singole razze, almeno di quelle a minor consistenza e a minor numero di fenotipi riconosciuti nello standard (Lipinski et al, 2008; Fig 1a e b).

Le scelte allevatorie dovrebbero essere, nel prossimo futuro, orientate anche ad uno sviluppo meno rapido delle razze e al mantenimento della maggior variabilità genetica di base possibile. Potrebbe essere d'aiuto a questo scopo anche un più stretto rigore nel controllo degli accoppiamenti da parte dalle associazioni e dei club di razza, come nelle specie di interesse zootecnico e nel cane (vedere articolo del presente volume "Genetica, prevenzione e diagnosi molecolare delle principali malattie ereditarie del cane"). I controlli di paternità sono

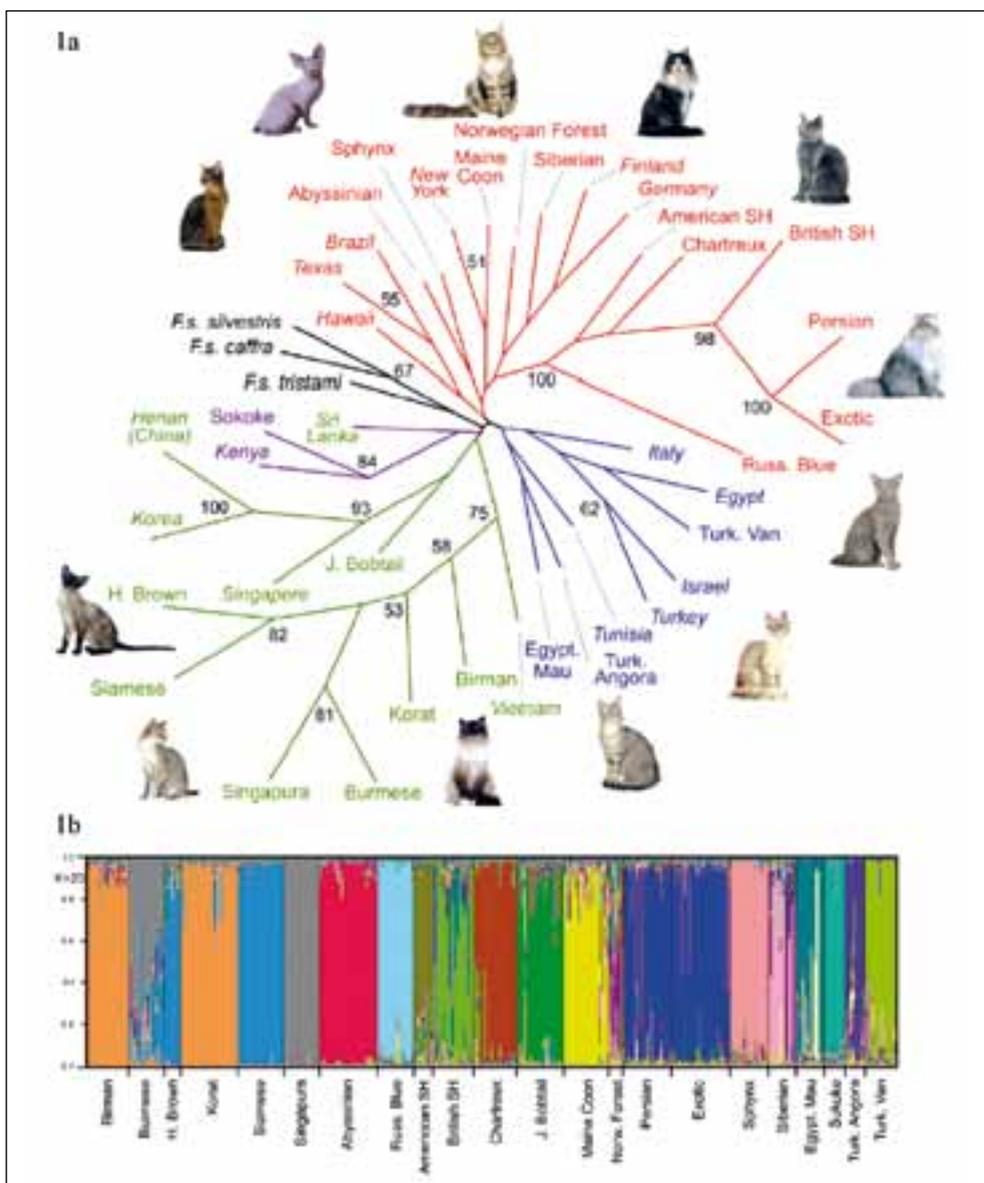


Fig.1a: Distribuzione delle razze di gatti di tutto il mondo sulla base delle differenze riscontrate analizzando le frequenze alleliche di loci microsatelliti. In verde le razze Asiatiche, in rosso quelle dell'Europa Occidentale, in blu quelle del bacino del Mediterraneo, in viola quelle dell'Africa Orientale e in nero quelle di gatto selvatico

Fig. 1b: Analisi condotta con il software Structure, i colori corrispondono al cluster genetico predetto dal software e le colonne in ascissa sono i singoli individui. Risulta evidente la forte omogeneità genetica all'interno di alcune razze, come il Siamese o l'Abissino, a differenza di razze che presentano ancora una discreta variabilità genetica come il British Shorthair o il gatto delle Foreste Norvegesi. Da: Lipinski et al., 2008

attualmente possibili con le stesse tecniche già descritte in questo volume per il cane. Molti marcatori microsattelliti sono stati descritti e utilizzati a tale scopo e anche per il gatto si effettuano “Comparison test” internazionali per la standardizzazione e il confronto delle metodiche e dei profili di lettura (Lipinski et al 2007).

Le associazioni feline italiane non hanno tuttavia introdotto questo tipo di controllo, se non per casi di contenzioso legale, anche se alcune, come ANFI, hanno reso obbligatoria recentemente l’identificazione del soggetto tramite applicazione del microchip sottocutaneo.

A tutt’oggi sono stati individuati oltre 20 disordini patologici a base ereditaria tutti in razze feline pure (<http://omia.angis.org.au>). Le conoscenze sul genoma del gatto (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/genome/guide/cat>) sono aumentate enormemente grazie alla spinta che gli studi sul genoma umano hanno dato all’analisi comparativa dei genomi di tutti gli esseri viventi, alle nuove tecnologie high throughput di sequenziamento, e anche grazie al fatto che la specie felina e il suo genoma sono considerati un buon modello sperimentale per molte malattie umane anche infettive, incluso l’AIDS. Il cariotipo di gatto (Fig.2) è di 38 cromosomi (un numero uguale a quello di maiale e simile a quello dell’uomo), molte malattie sono comuni alle due specie, il gatto è molto diffuso, di facile allevamento, è una specie politocica e che può condurre 2-3 gravidanze all’anno, permettendo la rapida costituzione di famiglie sperimentali.

L’identificazione di diverse mutazioni geniche causative di malattie ha favorito lo sviluppo di test diagnostici ampiamente utilizzati dagli allevatori per la scelta dei riproduttori e talvolta consigliati, se non resi obbligatori, dai club di razza o dalle associazioni feline. Oggi esiste un vasto numero di laboratori commerciali in grado di fornire diagnosi geneti-

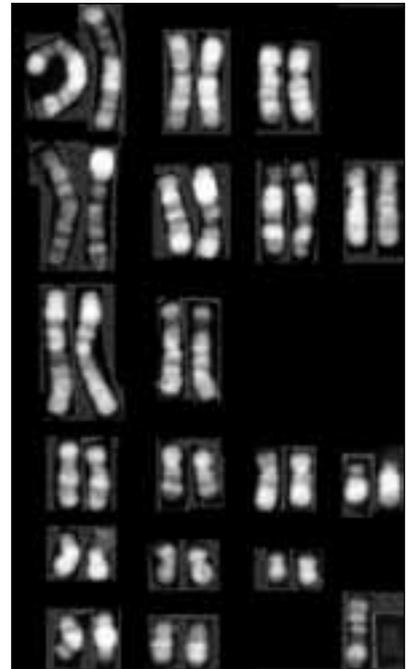


Fig.2 Cariotipo di gatto



Fig.3 Esempio di prelievo di materiale biologico per effettuare test genetico a DNA nel gatto. Nella foto a sinistra viene utilizzato un semplice cyto-brush, mentre nella foto a destra viene utilizzata una apposita lancetta acuminata sterile, per ottenere la fuoriuscita di una piccola goccia di sangue che verrà raccolta per apposizione su una cartina assorbente specifica per i prelievi del DNA.

che nel gatto, consentendo a chi le ha richieste (medico veterinario, allevatore, proprietario) di ottenere direttamente informazioni genotipiche dai test effettuati sul DNA. Questo tipo di analisi si effettua a partire dalla raccolta del campione biologico che più comunemente, nel gatto, consiste in un prelievo di cellule di sfaldamento della mucosa buccale tramite cottonfioc o *cytobrush* (Fig.3), anche se migliori risultati nell'analisi di laboratorio si ottengono con prelievo di sangue periferico da puntura gengivale (Fig.3) o dalle vene giugulare o brachiale. In quest'ultimo caso la possibilità di raccolta di diverse centinaia di ul di sangue consente anche uno stoccaggio abbondante del campione biologico e la costituzione di una banca del DNA felino, quale quella che è presente presso i Laboratori della Facoltà di Medicina Veterinaria di Milano.

Proprio questa disponibilità di test fruibili direttamente dagli allevatori su materiale biologico facilmente prelevabile autonomamente (tampone buccale), ha favorito lo scollamento tra la pratica allevatoriale e l'attività clinica veterinaria. Il veterinario, salvo pochissimi specialisti, non va nell'allevamento felino e non ne conosce le problematiche, soprattutto quelle legate ai tratti ereditari e alla selezione. D'altro canto l'allevatore si ritiene spesso autosufficiente nella gestione dei propri riproduttori. A fronte di questa scollamento, sempre più si configura la necessità di un'interazione non solo con il veterinario, ma anche col genetista per l'interpretazione del test genetico, per la gestione della patologia e dei portatori, per la maggior complessità delle scelte selettive che, come si è detto, oggi sempre più richiedono un equilibrio tra ottenimento del risultato fenotipico desiderato e mantenimento della variabilità genetica.

I test genetici diagnostici sono molto utili per l'identificazione dei soggetti portatori di un carattere mutato d'interesse. La conoscenza della prevalenza della mutazione a livello di razza consente di fissare dei programmi di selezione che prevedano come obiettivo l'eliminazione più o meno graduale di tale mutazione all'interno della razza coinvolta. In Tab.1 sono riportati i test attualmente disponibili per malattie ereditarie nel gatto. Tra questi i disordini ereditari più diffusi sono la Malattia del rene policistico (PKD) e la cardiomiopatia ipertrofica (HCM), entrambe a trasmissione autosomica dominante ad insorgenza tardiva.

**Tab.1 Malattie ereditarie del gatto e razze di cui è nota la/le mutazioni causative ed è disponibile un test diagnostico a DNA**

Disordine	Razza per cui disponibile un test a DNA	Riferimenti
Polycystic Kidney Disease-PKD1	Persiano, Esotico e razze persianizzate	Lyons L. A. et al 2004; Grahn RA et al 2004
Cardiomiopatia Iperetrofica (HCM)	Maine Coon; Ragdoll	Meurs KM et al , 2005 Meurs KM et al , 2007
Spinal Muscular Atrophy	Maine Coon	Fyfe J et al, 2006
Glicogenosi IV	Norvegese delle Foreste	Fyfe J et al, 2007
Erythrocyte Pyruvate Kinase Deficiency (PK) deficiency	Abissino e Somalo	Rouger H et al, 1996 Barrs VR et al, 2009
Ittero emolitico (gruppo sanguigno b)	Ragdoll e Angora turco	Bighignoli B et al., 2007
Gangliosidosi	Korat (GM1 e GM2); Brumese (GM2)	Muldoon L.L et al.,1994. Baker H.J. et al, 2001 Martin D.R. et al, 2008.
Progressive Retinal Atrophy (PRA)	Abissino e Somalo	Menotti-Raymond M. et al, 2007; 2010

## LA MALATTIA DEL RENE POLICISTICO (POLYCYSTIC KIDNEY DISEASE-PKD1)

La malattia del rene policistico (PKD1) è una malattia ereditaria riportata in letteratura dal 1967. È caratterizzata dalla presenza già alla nascita di una o più cisti in entrambi i reni. Le cisti sono cavità ripiene di fluidi provenienti dai tessuti sani del rene, che aumentano di numero e volume col crescere dell'animale, fino a raggiungere anche 2,5 cm di diametro. Il rene di un gatto colpito da PKD può presentare da 20 a 200 cisti.

La razza più colpita è il Persiano, tuttavia, possiamo ritrovare la malattia anche in altre razze di gatti: Exotic Shorthair, Selkirk Rex, British Shorthair, Scottish Fold, Sacri di Birmania, Ragdoll, American Shorthair, Devon Rex, Maine Coon, Norvegesi delle Foreste, Sphynx, Orientali, Cornish Rex, Abissina, Somala, Manx e Burmese. La mutazione causativa è stata identificata solo nella razza Persiana (Lyons LA et al, 2004), ma può ritrovarsi anche in razze o soggetti che derivano da incroci anche accidentali con Persiani.

La PKD è una malattia che si sviluppa lentamente e progressivamente. Clinicamente si manifesta con ingrossamento ed insufficienza renale piuttosto tardi, in media all'età di 7 anni. La presenza dei sintomi in un gatto affetto da PKD dipende dalla dimensione e dal numero delle cisti presenti. Pertanto l'insufficienza renale si presenta solo quando le cisti sostituiscono buona parte del parenchima renale sano (Fig.4).



*Fig. 4 Immagine di due reni malati, appartenenti ad un gatto affetto da PKD (a sinistra da <http://www.felinepkd.com/engphotos.htm>; a destra foto Prof.G.Sironi - UNIMI)*

Segni clinici di una forma avanzata possono essere depressione del sensorio, inappetenza, disidratazione, eccessiva minzione e perdita di peso. Esiste una certa variabilità nella rapidità con cui alcuni gatti sviluppano i segni clinici ed eventualmente muoiono. La presenza di cisti può essere diagnosticata, sotto sedazione e rasatura del pelo, per mezzo di analisi ecografiche ad uno stadio molto iniziale già a pochi (2-3) mesi di vita (Bonazzi et al 2008). Tuttavia indagini ecografiche in età così precoce possono avere successo diagnostico solo se l'operatore è particolarmente qualificato ed esperto e se utilizza apparecchiature di alto livello con sonde appropriate. Solo in questo caso l'indagine ecografica può arrivare fino al 98% di affidabilità diagnostica. Oggi è disponibile un test genetico molto valido che può identificare già alla nascita la mutazione responsabile della PKD. Determinare con assoluta certezza se un gatto ha la mutazione PKD1 si può a partire da un semplice prelievo di saliva o di sangue. Il vantaggio del test a DNA risiede nell'estrema precocità cui può essere condotto, consentendo di individuare il soggetto malato quando le cisti sono ancora talmente poche e piccole da non poter essere visibili ecograficamente. Questo permette di escludere dalla riproduzione i soggetti positivi o di condurre accoppiamenti mirati o ancora di vendere il soggetto fornendo al compratore indicazioni sullo stato di salute che potrà

avere il gatto. Per ora il test genetico è stato applicato soprattutto ai gatti di razza Persiana e di razza Esotica, storicamente derivata dal Persiano. Positività a PKD1 sono state però anche riscontrate in soggetti di altre razze (Fig.5).

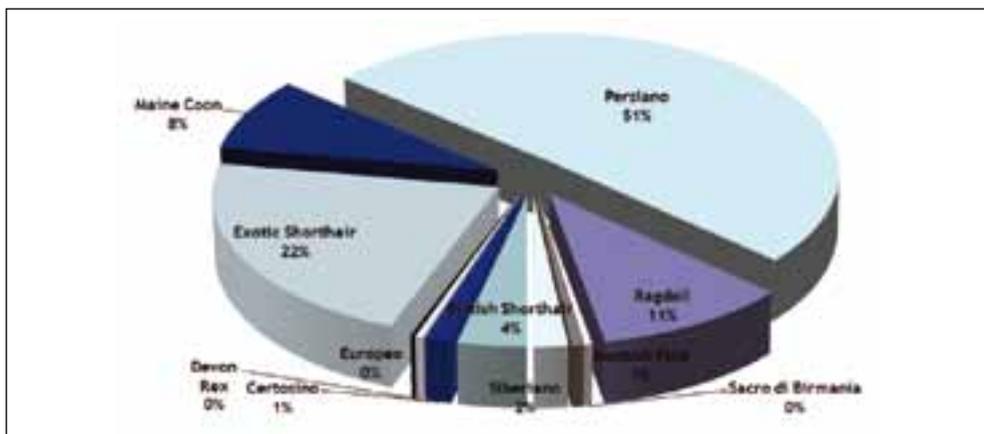


Fig. 5 Razze feline positive al test per l'identificazione della mutazione PKD1 e percentuale su circa 500 campioni conferiti al laboratorio Vetogene tra gli anni 2003 e 2009.

È importante ricordare che il test genetico non fornisce alcuna informazione sulla dimensione o sul numero delle cisti presenti in un soggetto, ma solo la presenza/assenza della mutazione causativa, non fornisce quindi informazioni predittive sui modi e i tempi di sviluppo della malattia.

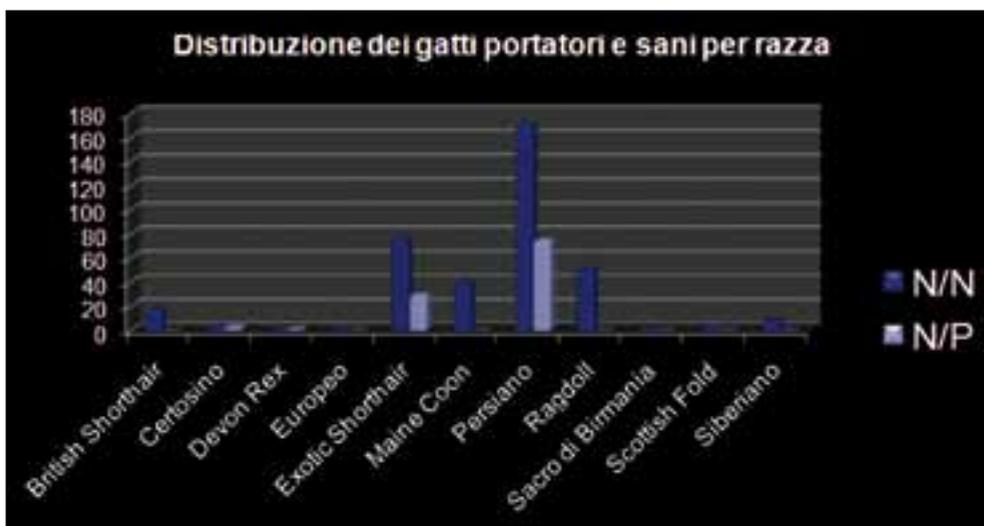


Fig.6: Distribuzione dei genotipi per PKD1 in diverse razze a partire dai test genetici effettuati presso il laboratorio Vetogene.

La mutazione PKD1 ha una trasmissione di tipo “autosomico dominante”. Autosomico, significa che il gene mutato è situato su una delle 18 coppie di cromosomi autosomici e non su uno dei cromosomi sessuali X o Y. Pertanto il sesso del gatto non ha in questo caso importanza nel determinismo del disordine ereditario. Maschi e femmine possono entrambi ed in egual misura essere colpiti dalla malattia. La PKD si presenta in forma dominante, perciò se un gatto eredita anche solo un allele mutato da uno dei suoi genitori, già alla nascita presenterà cisti renali e nell’arco della sua vita tenderà necessariamente a sviluppare la malattia. I gatti possono essere genotipicamente omozigoti per la variante wild type (cioè avere due copie del gene nella variante allelica normale: N/N) o eterozigoti (cioè avere una copia wild type e una mutata, quindi difettosa: N/P), Fig.6. Il mancato ritrovamento finora di soggetti omozigoti per la variante allelica mutata (D/P) è comunemente considerato segno di una letalità della mutazione in doppia dose e di morte e riassorbimento embrionale. I soggetti che quindi sono da gestire per la riproduzione e che sono da seguire anche clinicamente sono gli eterozigoti. Sono questi gatti che possono trasmettere alla prole l’allele normale, ma anche l’allele mutato (Tab.2)

**Tab.2 Schema relativo alla possibilità di accoppiamento in soggetti con diversi genotipi al locus PKD1**

GENITORI	FIGLI	ACCOPPIAMENTO
N/N x N/N	tutti N/N (=sani)	SI
N/N x N/P	50% N/N e 50% N/P (=50% malati)	NO
N/P x N/P	25% N/N e 75% N/P (=75% malati)	NO

Per il miglioramento genetico delle razze feline colpite da PKD, è molto importante quindi identificare gli animali positivi con il test del DNA e sottoporre i soggetti positivi a periodici esami ecografici per seguirne lo sviluppo clinico. Attualmente, per limitare la diffusione di questo disordine ereditario che presenta “insorgenza tardiva”, è molto importante il ruolo del medico veterinario che deve informare i propri clienti a richiedere, al momento dell’acquisto di un gatto di razza, la certificazione relativa al test genetico PKD.

#### LA CARDIOMIOPATIA IPERTROFICA FELINA (*HYPERTROPHIC CARDIOMYOPATHY – HCM*)

La cardiomiopatia ipertrofica (HCM) è la più comune malattia cardiaca del gatto e dell’uomo e costituisce un complesso di disordini cardiovascolari caratterizzato da marcata eterogeneità genetica e clinica. Fino ad oggi sono oltre 450 le mutazioni che sono ritenute responsabili nell’uomo di manifestazioni fenotipiche classificabili come HCM (Keren et al 2008). Quasi tutte sono mutazioni di proteine sarcomeriche che alterano i meccanismi molecolari di contrazione del muscolo e attivano i processi di crescita dei miociti (Seidman J. G. & Seidman C, 2001) Nel gatto la cardiomiopatia ipertrofica (HCM) è una malattia a trasmissione ereditaria autosomica dominante (Kittleson et al 1999). Nel 2005 è stata identificata una mutazione nella sequenza esonica del DNA del gene Myosin Binding Protein C3 (una proteina strutturale sarcomerica, spesso coinvolta anche nelle forme umane) fortemente associata alla malattia nella razza Maine Coon (Meurs et al 2005). La frequenza a livello mondiale della mutazione oscilla in un range che va dal 23 al 46% in questa razza. Nello stesso gene, ma in un punto differente, è stata identificata anche una seconda mutazione che è causativa dell’HCM del Ragdoll (Meurs et al 2007). Tuttavia, a differenza di PKD, è stato messo in evidenza che non tutti i gatti Maine Coon e Ragdoll che presentano queste mutazione si am-

malano di HCM. Esistono poi forme di HCM sicuramente a base ereditaria in diverse altre razze, quali ad esempio il Siberiano, che non sono associate alle mutazioni note e di cui sono ancora ignote le cause molecolari.

La cardiomiopatia ipertrofica è una malattia che si sviluppa lentamente, è una tipica forma ad “insorgenza tardiva”. I gatti affetti da HCM solitamente non danno segni visibili della patologia fino all’età di 12-18 mesi, con grande variabilità nella gravità e nei tempi di insorgenza, solo parzialmente riconducibili all’assetto genetico (omozigote o eterozigote per la mutazione). L’inizio dello sviluppo della malattia avviene talvolta già durante la tarda fase adolescenziale, ma la forma clinica conclamata si presenta in età adulta, anche dopo i 3 anni di vita. La principale manifestazione di HCM è l’ispessimento della parete ventricolare sinistra e dei muscoli papillari (Fig.7)

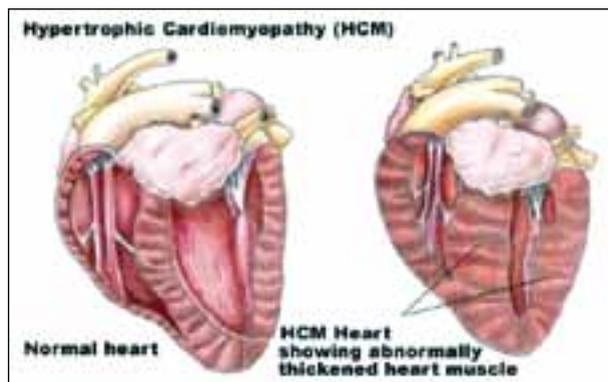


Fig. 7 L'immagine a sinistra mostra un cuore sano; l'immagine a destra un cuore in un soggetto affetto da HCM (ipertrofia del muscolo papillare) ([www.itriagehealth.com](http://www.itriagehealth.com))

con la riduzione della cavità ventricolare e della gittata cardiaca. I segni clinici sono variabili e variano dalla quasi assenza di segni alla difficoltà respiratoria, embolia e paresi del treno posteriore, aritmia. Nei casi più gravi si registra morte improvvisa anche senza insorgenza precedente di sintomi. L'esame istopatologico del miocardio rivela una disorganizzazione delle fibre miocardiali e fibrosi interstiziale.

Da un punto di vista della trasmissione genetica HCM è una malattia autosomica dominante a penetranza incompleta ed espressività variabile. Infatti può colpire indistintamente maschi e femmine (generalmente i maschi sono colpiti in età più giovane e più gravemente). È

possibile che un gatto abbia la mutazione causativa (soprattutto se in assetto eterozigote) e che non presenti segni o sintomi per tutto l'arco della sua esistenza (ma in ogni caso potrà trasmetterla alla progenie). Le modalità, i tempi e la gravità con cui la malattia, eventualmente, si manifesta variano da soggetto a soggetto.

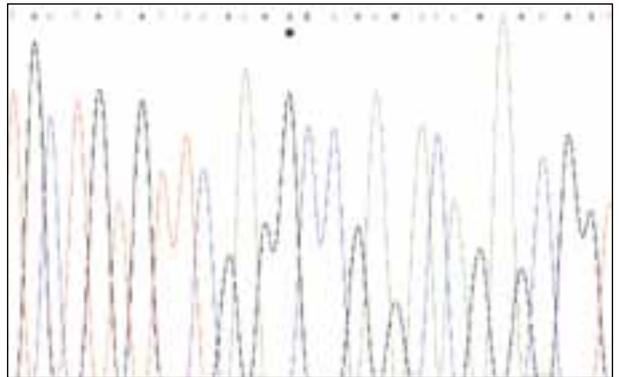
Per queste caratteristiche nonostante i numerosi studi condotti soprattutto in umana per HCM restano irrisolte molte domande sui meccanismi di determinazione della malattia.

La diagnosi di HCM viene effettuata solitamente tramite esame ecocardiografico, che tuttavia risulta inefficace prima dell'anno e mezzo di vita del gatto, quando cioè le dimensioni del cuore consentono di apprezzare un ispessimento significativo. L'esame ecocardiografico è comunque da considerarsi il metodo d'elezione sia per la diagnosi di malattia, sia per il successivo monitoraggio della sua evoluzione clinica. Oggi la riproduzione del gatto di razza (nel caso di Maine Coon e Ragdoll) non può prescindere dall'attuazione del test genetico a DNA associata all'esame ecocardiografico accurato all'anno-anno e mezzo di vita, ripetuto almeno una o due volte a distanza di circa un anno.

L'alta percentuale di alleli mutati nella popolazione mondiale, soprattutto di Maine Coon, la penetranza incompleta e l'espressività variabile hanno sconsigliato l'eliminazione dalla riproduzione dei soggetti eterozigoti per evitare un forte impatto sul pool genetico, con gravi conseguenze in termini di aumento della consanguineità, perdita di caratteri genetici favorevoli ed espressione di geni recessivi sfavorevoli.

Nel marzo del 2008, per sopperire alla carenza di coordinamento tra allevatori, veterinari e genetisti, è stato costituito l'Osservatorio Italiano HCM felina. Questa nuova organizzazio-

ne coinvolge il Maine Coon Club Italiano e altre associazioni di razza associate ad ANFI, lo Spin-off Vetogene dell'Università di Milano e specialisti clinici liberi professionisti. I principali obiettivi dell'Osservatorio sono il monitoraggio della prevalenza dell'HCM sul territorio italiano, il supporto scientifico agli allevatori nella scelta selettiva, la creazione di una banca biologica e di un database per ulteriori studi scientifici e la creazione, per la prima volta in Italia, di un punto di contatto tra allevatori, veterinari e comunità scientifica (M. Longeri et al. 2008). All'Osservatorio hanno già aderito molti allevatori e privati, sottoscrivendo una dichiarazione di impegno che prevede, per ogni gatto iscritto al progetto l'applicazione di un microchip per il controllo dell'identità, controlli clinici ed ecocardiografici periodici, deposito presso il laboratorio dell'Università di un campione di sangue e l'esecuzione del test genetico (limitatamente ai gatti di razza Maine Coon e Ragdoll per cui è disponibile). Il Laboratorio di Vetogene ha controllato in questi anni, la mutazione MYBPC3 di quasi 1000 soggetti di razza Maine Coon e Ragdoll, mediante sequenziamento di entrambi i filamenti di DNA, attualmente considerata la tecnica gold standard (Fig.8). Inoltre sono già stati raccolti e catalogati i campioni di sangue e le diagnosi ecocardiografiche provenienti anche da altre razze feline. Attualmente risultati sono a disposizione dei proprietari-allevatori, dei genetisti e dei veterinari liberi professionisti iscritti al progetto. I dati ottenuti, sono anche a disposizione (in forma anonima) delle associazioni di razza coinvolte che possono utilizzarle per la valutazione delle strategie selettive.



*Fig.8 Elettroferogramma che mostra la sequenza di DNA di un gatto per la ricerca della mutazione HCM; \* Indica il punto di mutazione nella diagnosi di HCM.*

L'esperienza dell'Osservatorio si sta allargando allo studio di nuove patologie e soprattutto al monitoraggio genetico di quelle note. Tra queste la Spinal Muscular Athrophy del Maine Coon, l'ittero neonatale nel Ragdoll e la Glicogenosi IV (GSD IV) del Norvegese delle Foreste, per cui è disponibile il test genetico presso i Laboratori Vetogene.

## SPINAL MUSCULAR ATHROPHY DEL MAINE COON

La SMA è una malattia ereditaria caratterizzata da una degenerazione dei motoneuroni del midollo spinale che determina un'atrofia muscolare agli arti. È una malattia presente nell'uomo e in altri animali, ed è stata segnalata nel Maine Coon, anche se è poco diffusa nella razza. La trasmissione è autosomica recessiva e la malattia si presenta già nel cucciolo a circa tre-quattro mesi. I gattini malati mostrano una progressiva instabilità nella deambulazione e posture anomale dovute a debolezza muscolare. Tuttavia questa malattia non è incompatibile con la vita e la crescita del gattino. Fyfe e altri ricercatori hanno identificato la causa di questa patologia in una mutazione del gene LIX1 (Fyfe et al 2006). Il test genetico per questa forma, che è simile alla SMA di tipo III dell'uomo, è disponibile per il Maine Coon e serve a controllare se soggetti fenotipicamente sani sono portatori (carrier) dell'allele mutato. Come tutti i test genetici, questo test è specifico per questa forma del Maine Coon.

## IDENTIFICAZIONE DELL' ALLELE B PER LA PREVENZIONE DELL'ITTERO NEONATALE

Il sistema AB di gruppo sanguigno dei gatti comprende 3 diversi tipi sierologici: il tipo A (genotipo AA o Ab) (il più comune), il tipo B genotipo bb (piuttosto comune soprattutto nelle razze British Shorthair, Devon Rex, Cornish Rex, Ragdoll, Birmana, Persiana, Abis-



*Fig.9 Gattino con Isoeritrolisi neonatale*  
Foto Dr. U.Giger da [http://www.fabcats.org/owners/blood\\_groups/info.html](http://www.fabcats.org/owners/blood_groups/info.html)

sina, Hymalaiana, Somala e Sphynx), e il rarissimo tipo AB detto anche C (stimato con una frequenza dello 0.4% nelle razze che hanno il gruppo B). La presenza di anticorpi naturali contro il diverso gruppo sanguigno (i gatti di gruppo A possiedono anticorpi contro il gruppo B, i gatti di gruppo B possiedono un alto titolo di anticorpi contro il gruppo A, mentre il gruppo AB non possiede anticorpi ed è quindi un ricevente universale), rende necessaria la tipizzazione del gruppo sanguigno prima di effettuare una trasfusione di sangue al gatto, dal momento che non esiste un donatore universale. Gli anticorpi naturali passano nel colostro della madre che allatta i cuccioli, causando l'Isoeritrolisi Neonatale (IN; Fig.9), malattia emolitica che può causare la morte di cuccioli sani. In particolar modo questo succede quando la madre di gruppo B allatta cuccioli di gruppo A. Recentemente è stato individuato il gene responsabile del gruppo sanguigno

A e B (Bighignoli, et al. 2007 ed è disponibile un test genetico che offre alcuni indubbi vantaggi rispetto al comune test sierologico: 1) non è indispensabile il prelievo di sangue e l'allestimento entro poche ore del test 2) il test genetico riconosce il portatore dell'allele b, a differenza del test sierologico.

### *Un esempio di applicazione*

Se si incrociano 2 soggetti di gruppo sanguigno A, ma entrambi portatori della variante b (quindi Ab), si ha la probabilità che un quarto dei figli nasca di gruppo sanguigno B (quindi bb). La possibilità attraverso il test genetico di riconoscere i soggetti portatori di b può essere di grande aiuto nella scelta degli accoppiamenti. Infatti una femmina B (bb) coperta da un maschio A (AA o Ab) produce anticorpi anti A e allattando può indurre ittero alla prole.

Per quanto riguarda il rarissimo gruppo AB (ricevente universale) di cui non è stato ancora chiarita la trasmissione ereditaria, il test genetico non riesce a discriminare tra il gruppo AB (detto anche C) e A, ma discrimina tra il gruppo AB e B. La ricerca per il gruppo AB è tuttora in corso e si chiede la collaborazione degli allevatori e veterinari per la raccolta dei campioni.

Il test genetico a DNA non distingue tra il tipo sierologico A e il tipo AB, quindi l'allele non-b, viene riportato come N.

Il risultato del test genetico quindi sarà il seguente:

- NN = gruppo sanguigno sierologico A o AB non portatore della variante b
- Nb = gruppo sanguigno sierologico A o AB portatore della variante b
- bb = gruppo sanguigno sierologico B

## GLICOGENOSI IV (GSD IV) DEL NORVEGESE DELLE FORESTE

La glicogenosi tipo IV o glycogen storage disease type IV (GSD IV) è una malattia ereditaria del metabolismo dello zucchero glucosio. La malattia è causata da un'ampia delezione nel gene per l'enzima GBE (Glycogen Branching Enzyme) che impedisce la produzione corretta dell'enzima. Quindi determina una carenza di glucosio e, di contro, l'accumulo di glicogeno non ramificato nei tessuti (Fyfe et al 2007). Generalmente i gattini muoiono alla nascita o poco dopo. Più raramente vivono qualche mese, ma progressivamente e rapidamente sviluppano atrofia muscolare e debolezza miocardica fino alla morte, che in genere sopraggiunge entro il primo anno e mezzo di vita. È una malattia a trasmissione autosomica recessiva. Il test genetico specifico per il Norvegese delle Foreste serve a controllare se soggetti fenotipicamente sani sono portatori (carrier) dell'allele mutato. Il test è consigliato nei gattini di Norvegese di linee famigliari note per la presenza della malattia.

Dall'esperienza di questi anni si può concludere che a fronte di sempre nuove conoscenze sulle cause molecolari delle malattie ereditarie, la raccolta di dati e campionature, la consulenza genetica e clinica, la collaborazione con le associazioni allevatori per l'indirizzo e il controllo della selezione del gatto di razza in Italia sono sempre più utili ed efficaci, e in questo la creazione dell'Osservatorio Italiano HCM Felina ha fornito un contributo fondamentale.

## BIBLIOGRAFIA

- 1) Baker H.J., B.F. Smith, D.R. Martin & P. Foureman. Molecular Diagnosis of Gangliosidoses: A Model for Elimination of Inherited Diseases in Pure Breeds. In Consultations in Feline Internal Medicine 4, J.R. August (ed.). W.B. Saunders, Philadelphia, 2001, pp 615-620
- 2) Barrs VR, Giger U, Wilson B, Chan CT, Lingard AE, Tran L, Seng A, Canfield PJ, Beatty JA. Erythrocytic pyruvate kinase deficiency and AB blood types in Australian Abyssinian and Somali cats. Aust Vet J. 2009, 87(1):39-44.
- 3) Bighignoli B., Niini T., Grahn R.A., Pedersen N.C., Millon L.V., Polli M., Longeri M., and Lyons L.A. (2007) Genetics of cytidine monophospho-N-acetylneuraminic acid hydroxylase (CMAH) and relationship to the domestic cat AB blood group. BMC Genetics, 8:27
- 4) Bonazzi M, Volta A, Gnudi G, Cozzi MC, Strillaci MG, Polli M, Longeri M., Manfredi S, Bertoni G. Comparison between ultrasound and genetic testing for the early diagnosis of polycystic kidney disease in Persian and Exotic Shorthair cats. Journal of Feline Medicine and Surgery. 2008;(11):430-434
- 5) Fyfe JC., Menotti-Raymond M., David V.A., Brichta L., Schäffer A.A., Agarwala R., Murphy W.J., Wedemeyer W.J., Gregory B.L., Buzzell B.G., Meghan M.C., Drummond C., Wirth B. and O'Brien S.J. An ~140-kb deletion associated with feline spinal muscular atrophy implies an essential LIX1 function for motor neuron survival. Genome Res. 2006 16: 1084-1090
- 6) Fyfe J.C., Kurzhals R.L., Hawkins M.G., Wang P., Yuhki N., Giger U., Van Winkle T.J., Haskins M.E., Patterson D.F., Henthorn P.S.. A complex rearrangement in GBE1 causes both perinatal hypoglycemic collapse and late-juvenile-onset neuromuscular degeneration in glycogen storage disease type IV of Norwegian forest cats. Molecular Genetics and Metabolism 90 (2007) 383–392
- 7) Grahn R. A., Biller D. S., Young A. E., Roe B. A., Qin B. and Lyons L. A. (2004) Genetic testing for feline polycystic kidney disease, Animal Genetics, 35, 462–504
- 8) <http://omia.angis.org.au>
- 9) <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/genome/guide/cat>
- 10) Keren A. Syrris P, McKenna WJ. Hypertrophic cardiomyopathy: The genetic determinants

- of clinical disease expression. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2008;5:158-168.-
- 11) Kittleson MD, Meurs KM, Munro MJ, Kittleson JA, Liu SK, Pion PD, Towbin JA. Familial hypertrophic cardiomyopathy in maine coon cats: an animal model of human disease. *Circulation*. 1999 Jun 22;99(24):3172-80.
  - 12) Lipinski M., Amigues Y., Blasi M., Broad T., Cherbonnel C., Jae Cho G., Delattre D., Dileanis S., Flynn J., Grattapaglia D., Guthrie A., Harper C., Lehtinen Karttunen P., Kimura H., Lewis G., Longeri M., Meriaux Jc, Morita M., Niini T., Pedersen N.C., Perrotta G., Polli M., Schubbert R., Lyons L.A. (2007) An international parentage and identification panel for the domestic cat (*Felis catus*). *Animal Genetics* 38: 371-77
  - 13) Lipinski M.J., Froenicke I., Baysac K.C., Billings N.C., Leutenegger C.M., Levy A.M., Longeri M., Niini T., Ozpinar H., Slater M.R., Pedersen N.C., Lyons L.A. (2008). The ascent of cat breeds : genetic evaluations of breeds and worldwide random-bred populations. *Genomics*, vol. 91; p. 12-21
  - 14) Longeri M, Pertica G, Ferrari P, Brambilla PG, Cozzi MC, Strillacci MG, Gandolfi B, Valiati P, Scilini C, Polli M, Cavalchino LG. The "Osservatorio italiano HCM felina": a feline inherited diseases network in Italy. *ISAG meeting*. Luglio 2008 Amsterdam.- The Netherland
  - 15) Lyons L. A., Biller D. S., Erdman C. A., Lipinski M. J., Young A. E., Roe B. A., Qin B. and Grahn R. A. (2004) Feline Polycystic Kidney Disease Mutation Identified in PKD1. *J Am Soc Nephrol* 15: 2548–2555)
  - 16) Martin D.R., B.A. Rigat, P. Foureman et al. Molecular consequences of the pathogenic mutation in feline GM1 gangliosidosis. *Molecular Genetics and Metabolism* 94: 212-221, 2008.
  - 17) Menotti-Raymond M, David VA, Schäffer AA, Stephens R, Wells D, Kumar-Singh R, O'Brien SJ, Narfström K. Mutation in CEP290 discovered for cat model of human retinal degeneration. *J. Hered.* 2007 May-Jun; 98(3):211-20.
  - 18) Menotti-Raymond M, David VA, Pflueger S, Roelke ME, Kehler J, O'Brien SJ, Narfström K. Widespread retinal degenerative disease mutation (rdAc) discovered among a large number of popular cat breeds. *Vet J.* 2009 Sep 9.
  - 19) Menotti-Raymond M, Deckman KH, David V, Myrkalo J, O'Brien SJ, Narfström K. Mutation discovered in a feline model of human congenital retinal blinding disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2010 Jun; 51(6):2852-9.
  - 20) Meurs KM, Sanchez X, David RM, Bowles NE, Towbin JA, Reiser PJ, Kittleson JA, Munro MJ, Dryburgh K, Macdonald KA, Kittleson MD. A cardiac myosin binding protein C mutation in the Maine Coon cat with familial hypertrophic cardiomyopathy. *Hum Mol Genet.* 2005 14(23):3587-93.
  - 21) Meurs KM, Norgard MM, Ederer MM, Hendrix KP, Kittleson MD. A substitution mutation in the myosin binding protein C gene in ragdoll hypertrophic cardiomyopathy. *Genomics.* 2007 90(2):261-4.
  - 22) Muldoon L.L., E.A. Neuwelt, M.A. Pagel, D.L. Weiss. Characterization of the molecular defect in a feline model for type II GM2-gangliosidosis (Sandhoff Disease). *American Journal of Pathology* 144:1109-1118, 1994.
  - 23) Rouger H, Valentin C, Craescu C, Galactéros F, Cohen-Solal M. Five unknown mutations in the LR pyruvate kinase gene associated with severe hereditary nonspherocytic haemolytic anaemia in France (1996) *British Journal of Haematology* 92: 825–830
  - 24) Seidman J. G. and Seidman C. The Genetic Basis for Cardiomyopathy: from Mutation Identification to Mechanistic Paradigms *Cell*, Vol. 104, 557–567, February 23, 2001

# GENETICA, PREVENZIONE E DIAGNOSI MOLECOLARE DELLE PRINCIPALI MALATTIE EREDITARIE DEL CANE E DEL GATTO

M. POLLI, S. BOCCALETTI, M. LONGERI

Università degli studi di Milano, Dipartimento di Scienze Animali,  
Facoltà di Medicina Veterinaria, Vetogene Lab

## PRINCIPALI APPLICAZIONI DELLE TECNICHE DEL DNA NEL CANE

### Introduzione

L'allevamento canino in Italia è storicamente molto antico e riveste un ruolo importante e molto consolidato, sia dal punto di vista economico che zootecnico e sociologico ed è rappresentato ufficialmente dall'Ente Nazionale della Cinofilia Italiana (ENCI). Secondo l'ultimo censimento sono presenti su tutto il territorio Nazionale più di 1.000.000 di cani di razza regolarmente iscritti al libro genealogico. L'Ente Nazionale della Cinofilia Italiana (emanazione del Ministero per le Politiche Agricole e Forestali) può contare sul supporto di circa 2000 soci allevatori e 100.000 soci aggregati ed è organizzato in più di 100 delegazioni locali che collaborano attivamente con gruppi cinofili e associazioni di razza ([www.enci.it](http://www.enci.it)).

Di fronte ad un settore così vasto ed in espansione è nata quindi la necessità da parte degli allevatori e cinofili di modificare le tradizionali pratiche di allevamento, finora spesso basate solo sulla ricerca dei fenotipi di interesse attraverso pratiche di *inbreeding*.

La riduzione del *pool* genetico che progressivamente ne è conseguita può, infatti, essere gestita solamente attraverso l'identificazione inequivocabile dei riproduttori, la pianificazione accorta degli accoppiamenti e l'applicazione di test diagnostici del DNA sempre più sensibili ed efficaci.

L'Enci negli ultimi anni ha dovuto porsi un nuovo ed importante obiettivo e cioè quello di monitorare la presenza delle patologie ereditarie nella realtà dell'allevamento canino italiano, favorendo il più possibile la ricerca scientifica, con un supporto formativo ed informativo agli allevatori italiani nelle loro scelte selettive, mirato soprattutto ad evitare un eccessivo aumento della consanguineità all'interno delle razze canine direttamente coinvolte. A tale proposito sono stati accreditati, nel corso degli ultimi anni, sette laboratori italiani di biologia molecolare iscritti all'ISAG (*International Society of Animal Genetics*) alcuni dei quali forniscono, oltre alle diagnosi molecolari, un valido supporto scientifico, agli allevatori italiani organizzando incontri informativi per divulgare le nuove tecnologie del DNA applicate al miglioramento genetico del cane.

Alcuni di questi laboratori sono degli "*spin-off*" universitari e quindi svolgono una ricerca scientifica all'avanguardia, direttamente applicata all'allevamento del cane con numerose collaborazioni con centri di ricerca internazionali. I laboratori coinvolti, in questo progetto di supporto informativo agli allevatori, sono dislocati in differenti regioni Italiane, ma soprattutto nel nord Italia, dove per varie ragioni esiste una più diffusa e radicata cultura cinofila (Tab. 1).

**Tab 1: Laboratori italiani accreditati dall'Enci**

VETOGENE Lab - Università degli Studi di Milano	MILANO
LABORATORIO BIOTECNOLOGIE GENETICHE - Università di Pisa	PISA
NGB GENETICS - Università di Ferrara	FERRARA
EREDITI	MONCALIERI (TO)
ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DEL MEZZOGIORNO	PORTICI (NA)
L.G.S. LABORATORIO DI GENETICA E SERVIZI	CREMONA
GENEFAST	BOLOGNA

Attualmente sono già numerosi gli allevatori che si rivolgono regolarmente ai laboratori riconosciuti dall'Enci, informandosi sulle principali novità diagnostiche relative alle patologie ereditarie del cane, anche se purtroppo alcuni dei laboratori indicati in tabella svolgono un'attività diagnostica ancora molto limitata per le numerose patologie ereditarie presenti nel cane di razza. Solo in alcuni casi, soprattutto da parte del laboratorio Vetogene dell'Università degli Studi di Milano, il primo centro di ricerca che storicamente in Italia ha affiancato l'ENCI nell'applicazione delle tecniche del DNA al cane di razza, viene proposto un vero e proprio supporto scientifico e di assistenza anche nell'indirizzamento dei campioni del DNA verso altri laboratori internazionali che eseguono alcuni test del DNA come laboratori di riferimento, in quanto detentori esclusivi di brevetti relativi a determinate test diagnostici, che corrispondono ad alcune patologie ereditarie del cane di razza.

### ***Analisi del Dna nel cane***

Negli ultimi anni si è assistito ad un sensibile aumento degli studi genetici riguardanti la specie canina a livello del DNA, di conseguenza sono sempre più numerose anche le possibili applicazioni che da essi derivano. Di particolare interesse risultano le ricerche volte alla comprensione, a livello molecolare, dei principali disordini genetici che interessano il cane. Il progetto di mappaggio del genoma canino, con l'identificazione di "loci" da correlare con i geni responsabili delle principali malattie genetiche, si è basato finora soprattutto sulle tecniche che prevedono l'utilizzo di marcatori del DNA detti "microsatelliti" e successivamente sul sequenziamento di tutte le basi di DNA del genoma del cane. Grazie a queste tecniche è stato possibile ottenere una valida mappa del genoma e ciò ha già consentito di identificare numerosi geni che sono alla base di differenti malattie ereditarie che colpiscono le diverse razze canine. In particolare, i marcatori *microsatelliti* hanno permesso di condurre studi di filogenesi soprattutto su razze canine selezionate in ecosistemi assai diversi, con differenti attitudini e con un'ampia variabilità morfologica. Nel cane è ora possibile disporre di una mappa del genoma (non ancora del tutto saturata), che ci permette di riconoscere direttamente i geni difettosi relativi a determinate malattie ereditarie e di monitorare in modo preciso fenomeni quali la perdita di eterozigosità e l'erosione genetica. E' inoltre possibile calcolare i coefficienti di consanguineità all'interno di una determinata popolazione. Le tecniche di studio del DNA consentono anche l'identificazione genetica di un soggetto, e l'identificazione in termini probabilistici della razza. Questi aspetti permettendo di conoscere in modo efficace e certo l'identità di un riproduttore, e di effettuarne quindi l'identificazione genetica, sono evidentemente molto importanti ai fini delle possibili applicazioni sia nel campo della medicina veterinaria forense, che in quello del miglioramento genetico di una razza canina. Infatti anche da un punto di vista medico legale sono sempre più frequenti le richieste di analisi del DNA, presso il laboratorio Vetogene dell'Università degli Studi di Milano, relative soprattutto agli animali domestici che convivono più strettamente con l'uomo, in particolare il cane ma anche il gatto. Attualmente appare assolutamente ovvio di come le tracce animali, soprattutto costituite da peli, possano rappresentare elementi fondamentali in termini di prove giudiziarie. Non a caso sempre più spesso si assiste alla richiesta di un confronto fra il DNA rinvenuto come materiale biologico, di solito costituito da pelo animale, prelevato su capi di abbigliamento di persone indagate per qualche delitto, e quello appartenente ad un animale della vittima, di solito rappresentato da un cane o da un gatto. A tal proposito si deve ricordare che molti animali domestici sono già registrati ed identificati attraverso l'analisi del loro DNA, a livello di libro genealogico. Infatti, ai fini della selezione degli individui di razza, una corretta identificazione del soggetto è di estrema importanza, in particolar modo quando si tratta di un riproduttore di alto valore genetico ed economico. Il metodo biomolecolare dei marcatori *microsatelliti* è oggi disponibile e largamente utilizzato per questo scopo. L'identi-

ficazione genetica fornisce quindi una convalida oggettiva della semplice registrazione anagrafica e genealogica e può rappresentare un elemento importante nel caso in cui alcuni animali siano oggetto di indagini di medicina veterinaria forense.

L'accertamento della parentela, e quindi l'identificazione genetica di molti animali, permette la certificazione genetica della paternità e della maternità. La certificazione della parentela che sfrutta l'utilizzo dei marcatori *microsatelliti*, è ampiamente utilizzata in diverse specie zootecniche ed è considerata insostituibile nella certificazione dei dati genealogici. La base scientifica di tale analisi risiede nel presupposto che un soggetto "figlio" eredita un allele dal "padre" e un allele dalla "madre". Il test di parentela si basa sul principio di esclusione della parentela stessa: cioè il soggetto che risulta escluso nella diagnosi non può essere il genitore biologico del cucciolo preso in esame, il soggetto che non viene escluso nella diagnosi può essere il genitore biologico del soggetto considerato. Si tratta quindi di verificare la compatibilità di un figlio con i genitori.

L'analisi della parentela si basa sull'identificazione del genotipo dei soggetti attraverso lo studio dei marcatori genetici *microsatelliti* (Tab 2).

**Tab 2: Possibili genotipi dei cuccioli (area più scura) ottenuti accoppiando un padre AB con una madre CD**

MARCATORE		PADRE	
		A	B
MADRE	C	AC	BC
	D	AD	BD

Il principio dell'ereditarietà, su cui si fonda la diagnosi di parentela, è che questi marcatori *microsatelliti* si trasmettono in modo mendeliano e quindi il figlio eredita un allele paterno ed uno materno. L'accuratezza del test è praticamente infallibile, corrispondendo infatti nel 100% dei casi, nel determinare l'esclusione di parentela. Per quanto riguarda l'attribuzione bisogna invece, avvalersi del calcolo delle probabilità e dell'analisi statistica tenendo in considerazione sia il numero di marcatori utilizzati e i genotipi coinvolti, sia la frequenza allelica della razza di appartenenza dei soggetti analizzati.

L'elevato numero di marcatori *microsatelliti* utilizzabili consente la certificazione della parentela anche nel caso in cui i presunti genitori siano imparentati tra loro (genotipo in parte identico) o nel caso in cui la razza di appartenenza sia caratterizzata da un elevato indice di consanguineità.

Le potenzialità del test di accertamento della parentela sono anche utili nel caso in cui una fattrice si sia accoppiata con più maschi (alcune specie animali hanno ovulazione multipla: le cellule uovo che possono essere fecondate sono molte) dando vita ad una cucciolata con paternità mista. Con l'analisi genetica è possibile anche in questi casi stabilire la paternità reale e univoca di ciascun cucciolo.

L'identificazione del soggetto ed il controllo della parentela tramite analisi del DNA non hanno alcun potere di individuare patologie genetiche di natura ereditaria o morfologiche e comportamentali. Ma l'identificazione dei soggetti attraverso l'analisi del DNA (compresa la certificazione di parentela), aiuta a costituire una banca di dati genetici utile al fine di studiare le popolazioni canine e la trasmissione delle patologie genetiche certificando l'identità del soggetto con ricadute molto importanti anche dal punto di vista della medicina veterinaria forense.

L'identificazione dei soggetti del proprio allevamento e la certificazione di parentela costituiscono un importante valore aggiunto dal punto di vista genetico e commerciale dei soggetti prodotti (Fig. 1).

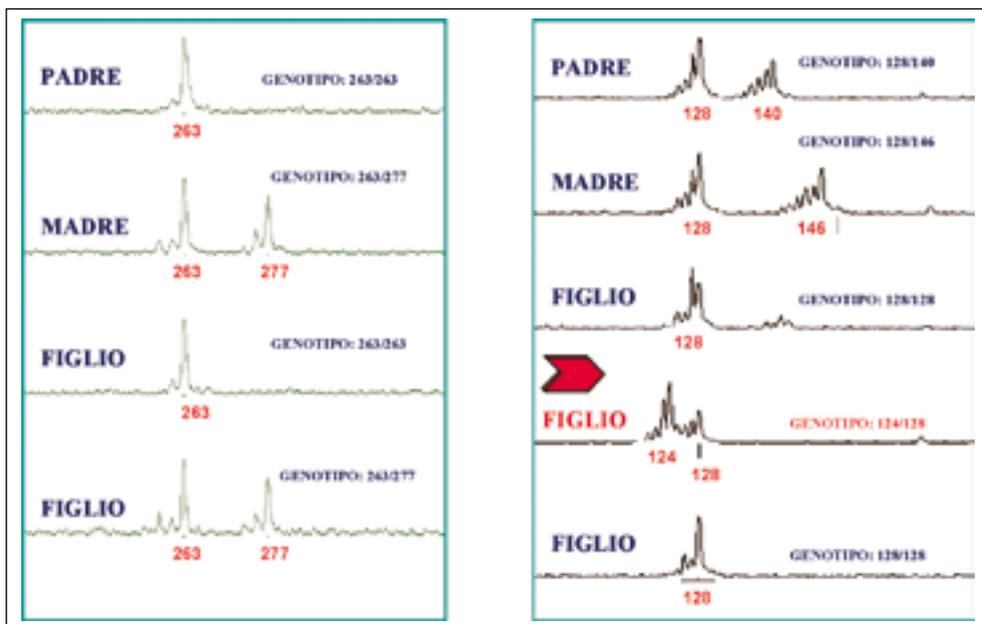


Fig.1: Entrambe le figure mostrano l'elettroferogramma ottenuto nell'analisi di marcatori microsatelliti per la diagnosi di parentela in 2 differenti cucciolate. Nell'immagine a sinistra è possibile verificare la trasmissione degli alleli materni e paterni ai figli. Un allele viene ereditato dal padre e uno dalla madre (il padre è omozigote, la madre è eterozigote, il primo figlio è omozigote e il secondo è eterozigote). Lo stesso schema è rappresentato nella figura a destra dove entrambi i genitori sono eterozigoti per il microsatellite analizzato. In questo caso due figli sono omozigoti ed hanno ereditato un allele dal padre e uno dalla madre. Per questi esiste compatibilità con i genitore quindi la diagnosi è positiva. Nella cucciolata è presente però un figlio (indicato dalla freccia rossa) che ha ereditato un allele dal padre o dalla madre (128), mentre l'allele (124) non è presente in nessuno dei due genitori. In questo caso la diagnosi è negativa e probabilmente è dovuta all'accoppiamento della madre con un altro stallone che nel genotipo relativo al quel microsatelliti aveva l'allele 124.

### Banca genetica del cane in Italia

In molti Paesi Europei e soprattutto negli Stati Uniti vengono periodicamente effettuati, da parte dei rispettivi "Kennel Club", controlli ufficiali che prevedono anche la verifica della genealogia dei soggetti tramite test del DNA (in Italia questi controlli vengono effettuati solo dall'Ente Nazionale della Cinofilia Italiana). Oggi anche in Italia, come del resto in molti altri paesi europei esiste un'importante e ben rappresentata banca dati del DNA del cane. Infatti a seguito dell'applicazione del regolamento relativo alle Nuove Norme Tecniche del Libro Genealogico (DPR del 08/03/2005) attuato dall'Ente Nazionale della Cinofilia Italiana (ENCI) nel dicembre del 2007, esiste una banca genetica del DNA riguardante circa 30.000 soggetti, questi soggetti appartengono tutti alla categoria dei cani di razza. Questa banca genetica si sta progressivamente espandendo, infatti ogni anno i campioni di DNA depositati dagli allevatori risultano in costante in aumento. In Italia le norme Tecniche del libro genealogico prevedono principalmente la conservazione di un campione biologico (pelo, saliva o sangue) appartenente ai riproduttori selezionati. Questo compito è affidato alle società di razza spe-

cializzate, le quali devono organizzare il prelievo e la conservazione del materiale biologico presso un laboratorio autorizzato dall'Ente Nazionale della Cinofilia Italiana. In alternativa alla conservazione del materiale biologico, i proprietari possono richiedere l'identificazione del soggetto attraverso l'analisi del DNA, avvalendosi del campione raccolto e depositato dalla società specializzata presso un laboratorio di riferimento, in modo tale da poter disporre dell'identificazione genetica dei loro riproduttori.

Da alcuni anni sette laboratori italiani (Tab 1) svolgono le diagnosi di parentela, mediante la tecnologia del DNA, ad un elevato numero di riproduttori su indicazione dell'Ente Nazionale della Cinofilia Italiana. La normativa già attuata dall'Enci prevede l'identificazione con analisi del DNA, o il deposito di un campione biologico per:

- a) i riproduttori da ammettere alla riproduzione selezionata
- b) gli stalloni che hanno prodotto più di 5 cucciolate
- c) gli stalloni usati in Fecondazione Artificiale
- d) gli stalloni esteri in Italia in stazione di monta
- e) i campioni di bellezza, di lavoro e riproduttori riconosciuti dall'ENCI

Per attuare le norme tecniche del DPR 08/03/2005, si prevede per i prossimi anni un notevole incremento della campionatura da analizzare. In seguito all' "International canine DNA typing comparison test 2010" con la partecipazione di numerosi laboratori Internazionali, è stato stabilito che in futuro verranno identificate e studiate nuove sequenze *microsatelliti* ad elevato polimorfismo, per effettuare studi più efficaci di variabilità genetica nelle principali razze canine.

### ***Il test del DNA per il riconoscimento del genotipo nel cane***

Lo sviluppo delle tecnologie di analisi del DNA ha permesso un notevole progresso nel settore della genetica animale, mettendo a disposizione gli strumenti per la caratterizzazione del genoma delle singole specie. Ogni animale presenta nel proprio DNA un specifico codice che definisce la sua impronta genetica. Infatti anche negli animali, il profilo genetico di ogni soggetto è praticamente unico e non sovrapponibile con quello di un altro animale. Questa caratteristica è alla base delle principali metodologie utilizzate per determinare se due animali sono correlati geneticamente o se un campione biologico reperito in un contesto sottoposto a particolari indagini appartenga o meno ad un determinato animale. Esistono inoltre numerose richieste, presso il laboratorio Vetogene, per l'identificazione della specie di appartenenza di animali le cui tracce biologiche sono state rinvenute in particolari circostanze per le quali si stanno effettuando anche delle indagini giudiziarie.

### ***Prelievo di materiale biologico ed estrazioni del DNA: casi particolari***

Negli animali domestici, come nell'uomo, è possibile effettuare prelievi di numerosi tessuti quali ad esempio: sangue, saliva, pelo, liquido seminale, tessuto osseo etc. In teoria, tutte le tecniche di prelievo note per l'uomo possono essere applicate anche agli animali domestici. Nel cane e nel gatto la tecnica di prelievo che attualmente sembra offrire i maggiori vantaggi è quella effettuata tramite delle particolari cartine (*Vet Card System*) che funzionano mediante l'assorbimento di una semplice goccia di sangue da cui poi verrà estratto il DNA. Queste cartine assorbenti consentono una più facile manipolazione, spedizione e conservazione del materiale biologico. Di solito per la raccolta del campione negli animali domestici si esegue una piccola ferita, con un ago sterile, nella mucosa buccale degli animali da sottoporre a controllo. In alcuni casi si utilizzano dei semplici "cotton-fioc o dei cito-brush" (spazzolino per prelievi di citologia) che permettono la raccolta di saliva con la presenza di cellule di sfaldamento della mucosa buccale (Fig 2).

Il prelievo e la manipolazione del DNA non differisce molto da quanto viene fatto in medicina umana. Nel caso degli animali però ci sono delle situazioni particolari che vanno analizzate nel dettaglio.



Fig 2. Nel cane ed in altre specie domestiche per i prelievi di materiale biologico è molto diffuso il kit Vet kard System. La goccia di sangue viene posta per apposizione sulla cartina che può essere manipolata, conservata e spedita in modo molto semplice rispetto ai prelievi di sangue con provette.

La prima situazione si riferisce ai casi nei quali è possibile reperire il seme di un determinato animale, congelato e conservato presso alcuni laboratori al fine di pratiche relative alla fecondazione artificiale. Infatti sono ormai diverse le specie animali, in particolare cani, bovini ed equini, per le quali esiste il deposito del seme congelato dal quale è possibile reperire il DNA. Tale seme può essere facilmente confrontato con le tracce biologiche ascrivibili a un determinato animale al fine di effettuarne il riconoscimento. Una seconda situazione è rappresentata dall'estrazione del DNA dalle feci, materiale biologico facilmente reperibile nell'ambiente nel quale un determinato animale vive. Dagli studi effettuati presso il laboratorio Vetogene del Dipartimento di Scienze Animali dell'Università degli Studi di Milano, si è visto che, a dispetto della facilità di reperimento del materiale biologico in questione, la qualità e la quantità di DNA che da esso si può estrarre è spesso scarsa. Ciò dipende da numerosi fattori riguardanti soprattutto le cattive condizioni di conservazione dei campioni stessi. Esistono poi due situazioni nelle quali bisogna utilizzare particolare cautela per non incorrere in grossolani errori di riconoscimento di un determinato soggetto. La prima situazione, è quella nella quale uno dei campioni biologici sia costituito da saliva o da cellule di sfaldamento della mucosa buccale prelevati attraverso il

cosiddetto "buccal swab" che si effettua utilizzando, come accennato sopra, un *cotton-fioc* o un *cito-brush*. Bisogna ricordare che frequentemente gli animali durante lo svezzamento, ma in alcuni casi per molti mesi dopo la nascita, continuano a succhiare il latte dalla madre, e quindi accade spesso che il prelievo effettuato dalla mucosa buccale, contenga sia cellule dell'individuo che si deve analizzare ma anche le cellule somatiche del latte che ovviamente fanno riferimento al genotipo della madre. Questa evenienza per quanto ovvia possa essere è purtroppo molto frequente ed inevitabilmente comporta nelle fasi di lettura del profilo genetico del soggetto esaminato, frequenti errori di interpretazione (Fig 3).

Infine il caso sicuramente più problematico riguarda l'estrazione di DNA proveniente da peli rinvenuti in ambienti, su capi di abbigliamento o su persone sottoposte ad indagine.

A tale proposito, per l'esperienza del laboratorio Vetogene del Dipartimento di Scienze Animali dell'Università degli Studi di Milano, sono emerse difficoltà spesso rappresentate dalla presenza contemporanea di peli provenienti da più soggetti, in alcuni casi di specie o razze differenti. Quindi nel caso di un reperto costituito da peli animali si deve sempre prendere in considerazione la possibilità che il campione sia fortemente inquinato da peli appartenenti a soggetti e/o razze differenti.

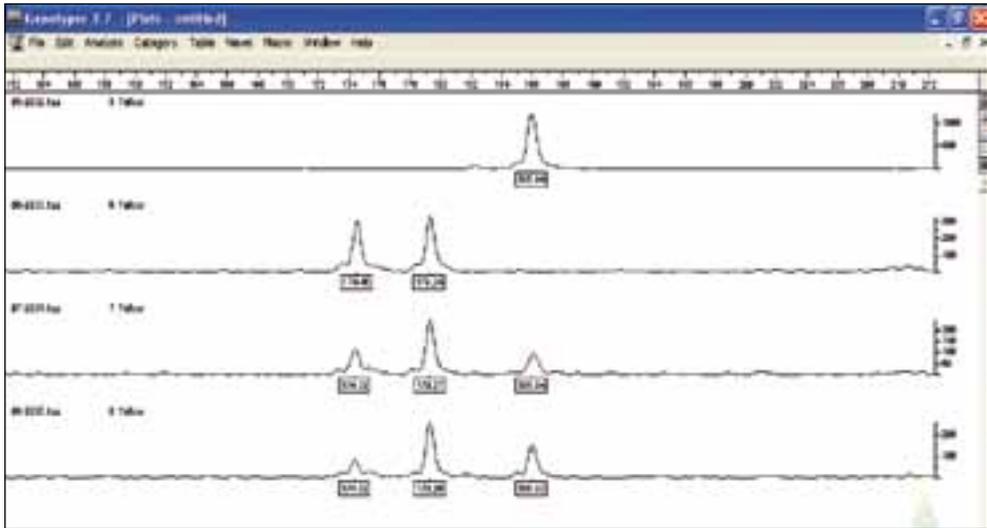


Fig 3. Elettroferogramma ottenuto da una diagnosi di parentela di una cucciolata di pastore tedesco: I prelievi sono stati eseguiti mediante “cito-brush” a livello della mucosa buccale. Il primo soggetto è il padre (omozigote), il secondo soggetto è la madre (eterozigote). Nel profilo dei cuccioli è evidente (terzo e quarto soggetto) la presenza di tre alleli. Figurano infatti entrambi gli alleli della madre e quello ereditato dal padre. La presenza dei due alleli della madre è motivata dall’inquinamento con il latte, conseguente all’esecuzione del prelievo dopo la poppata.

#### **Determinazione del genotipo tramite l’utilizzo di loci microsatelliti**

Nel cane l’indagine del DNA viene effettuata mediante la tecnica della PCR (*Polymerase Chain Reaction*, reazione a catena della polimerasi). Mediante questa tecnica è possibile amplificare e studiare a livello del DNA delle brevi sequenze che sono denominate STR (*Short Tandem Repeats*) o più comunemente *microsatelliti*. Queste sequenze (da 2 a 4 nucleotidi) sono ripetute un numero variabile di volte e disperse in modo ubiquitario lungo tutto il genoma. I *microsatelliti* non codificano per alcun carattere fenotipico, sono dei *loci* polimorfici e quindi si presentano sotto diverse forme a seconda del numero di ripetizioni dell’unità base (allele). Generalmente ogni individuo presenta, relativamente ad un *locus microsatellite*, un numero di ripetizioni differenti e quindi un allele diverso rispetto ad un altro individuo. In questo modo, se scegliamo casualmente degli animali in una determinata popolazione, per quel determinato *microsatellite*, avremo genotipi differenti in quanto nei diversi animali ci saranno alleli diversi. Naturalmente, le probabilità di avere dei genotipi differenti tra i soggetti analizzati aumenta quanto più gli animali sono lontani geneticamente fra di loro (diversi, non imparentati) e quanti più marcatori vengono utilizzati per condurre l’analisi genetica. Con l’analisi dei polimorfismi dei *microsatelliti* ogni singolo soggetto può essere tipizzato da un genotipo ben definito. Bisogna inoltre ricordare che i *microsatelliti*, come precedentemente sottolineato, costituiscono un elemento fondamentale per effettuare diagnosi di parentela. Infatti i *microsatelliti* di un individuo sono sempre rappresentati da due alleli, uno ereditato dal padre e l’altro dalla madre. Effettuando il confronto tra più animali è quindi possibile controllare la compatibilità degli alleli presenti nei diversi soggetti a livello di più *loci microsatelliti*, ciò consente di stabilire l’eventuale grado di parentela. E’ importante, a seconda del grado di consanguineità presente in una determinata popolazione utilizzare un numero di *microsatelliti* sufficientemente elevato, in modo tale da analizzare il più possibile la variabilità genetica tra gli

individui per non incorrere in errori di attribuzione della parentela. Ricordiamo che nel cane, soprattutto a livello di alcune razze (tra cui Dobermann e Bulldog), esiste un grado di consanguineità che ben difficilmente si può riscontrare in altre specie animali (ad esempio l'uomo) ed è quindi estremamente importante in questa specie analizzare molti *microsatelliti* contemporaneamente. A tale riguardo, le linee guida dell'*International Society of Animal Genetics* (ISAG) prevedono, per poter ottenere una probabilità di esclusione della parentela errata (PE) del 99%, l'analisi di 24 *loci* microsatelliti in tutte le razze canine. Per quanto riguarda la medicina forense la succitata differenza fra il cane e le altre specie animali (in particolare l'uomo che spesso funge da riferimento) è un aspetto che deve essere tenuto in debita considerazione. All'aumentare della possibile consanguineità in una determinata popolazione, e quindi nel caso di una situazione di elevata omozigosi tipica di razze in forte selezione genetica (cane, gatto, bovino ecc), al diminuire della variabilità genetica deve assolutamente corrispondere un aumento del numero dei marcatori *microsatelliti* utilizzati nel riconoscimento di un soggetto. Come già accennato, la diagnosi di parentela, mediante *microsatelliti* del DNA viene eseguita attraverso il confronto del genotipo dei presunti genitori con il genotipo del figlio e si basa direttamente sul principio della Probabilità di Esclusione (PE). Attraverso l'analisi dei *microsatelliti* l'assenza di trasmissione di un allele tra un genitore e un figlio decreta con assoluta certezza la diagnosi negativa, cioè il soggetto non è figlio del genitore presunto. Nel caso di trasmissione dell'allele di un genitore al figlio esiste in termini probabilistici la compatibilità dei soggetti. In funzione della probabilità di esclusione della parentela errata, la certezza della diagnosi sarà tanto maggiore quanto maggiore sarà il numero dei *microsatelliti* impiegati nei quali si è potuta constatare la compatibilità nella trasmissione degli alleli. Tuttavia va segnalato che esistono rare situazioni per le quali, a seguito di una mutazione del DNA, gli alleli di un determinato *microsatellite* non corrispondono, anche se i soggetti sono effettivamente figli dei presunti genitori. In questo caso la diagnosi viene definita "dubbia". Per essere certi che si tratti di una mutazione occorre ricorrere a procedure di sequenziamento a livello del *locus* microsatellite coinvolto o, più semplicemente, basta aumentare il più possibile l'analisi con un pannello di microsatelliti aggiuntivo rispetto alle procedure di *routine*.

Quindi l'attendibilità dell'esclusione della parentela è tanto maggiore quanti più *loci* microsatelliti sono analizzati e quanto più tali loci sono polimorfici in una determinata popolazione.

### ***Analisi del cromosoma X ed Y per lo studio dei rapporti di parentela nel cane***

In Medicina Veterinaria un'ulteriore possibilità è costituita dall'analisi del cromosoma Y. Un cucciolo maschio eredita sempre dal padre il cromosoma Y, mentre dalla madre il cromosoma X. E' possibile quindi ricorrere, per il riconoscimento di un soggetto, all'analisi di particolari polimorfismi presenti sul cromosoma Y, quali ad esempio marcatori *microsatelliti* o marcatori *SNPs* (*Single Nucleotide Polimorphisms*) specifici per il cromosoma Y. Ovviamente tale metodo è molto utilizzato là dove la compatibilità accertata tra individui con i metodi precedenti descritti non sia sufficiente. Spesso si utilizza nelle diagnosi per le quali il confronto diretto con il padre non è possibile ma sono disponibili probabili confronti con campioni biologici di fratelli, del nonno o di un fratello del nonno degli animali da analizzare. Analogamente a quanto descritto in precedenza è anche possibile ricorrere al controllo dell'aplotipo del cromosoma X. Infatti le femmine hanno un cariotipo nel quale a livello dei cromosomi sessuali è presente l'assetto XX, una X è ereditata dal padre e l'altra X è ereditata dalla madre. Anche in questo caso con marcatori *microsatelliti* specifici o con marcatori *SNPs* (*Single Nucleotide Polimorphisms*) è possibile ricostruire le relazioni di parentela collegate alla madre (nonne-nipoti). Per via patrilineare è possibile inoltre stabilire, per esempio, se due femmine sono sorelle o figlie dello stesso padre (cromosoma X compatibile) arrivando in alcuni casi a delle probabilità di compatibilità superiori al 99%.



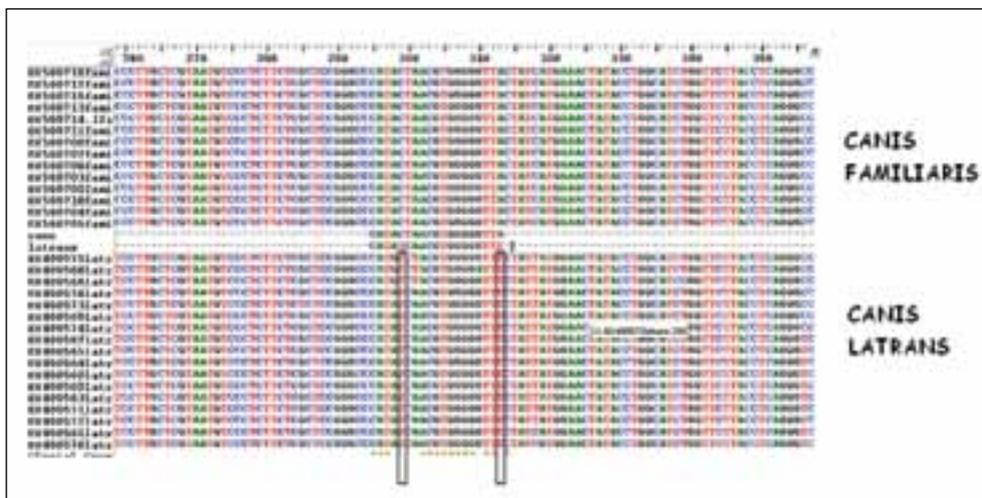


Fig 5 Esempio di sequenze per il riconoscimento di specie molto affini. Analizzando regioni ipervariabili del DNA mitocondriale le differenze tra specie molto vicine filogeneticamente è più difficile. Nell'immagine sono indicate le differenze nella sequenza del DNA mitocondriale tra il cane (*Canis lupus familiaris*) e il coyote (*Canis latrans*). Il cane ed il coyote dal punto di vista biologico sono animali molto vicini. Per questo motivo, il mitocondriale di tutti i *Canis latrans* differiscono da quelli dei canidi per alcune mutazioni tipiche (indicate nella figura all'interno dei riquadri).

#### ATTRIBUZIONE DI UN INDIVIDUO AD UNA RAZZA O POPOLAZIONE

Attualmente sono disponibili alcuni *softwares* che consentono, sulla base di una analisi ottenuta attraverso il controllo dei genotipi relativi a più *microsatelliti*, di effettuare l'attribuzione di un individuo ad una razza/popolazione e/o a più popolazioni se ci si trova di fronte a soggetti ottenuti da incroci di più razze. Tale analisi può essere condotta solo da laboratori che dispongono di un archivio genetico molto ampio, rappresentato da soggetti appartenenti alle razze più diverse e non imparentati in seconda generazione (almeno 4 nonni diversi). I *softwares* utilizzano un modello di raggruppamento relativo ai genotipi dei *microsatelliti* analizzati al fine di identificare l'assetto delle popolazioni e quindi attribuire un determinato animale alla parte di genoma che viene condivisa con le razze/popolazioni presenti in archivio. Questo metodo risulta molto efficace quanto più rigorosamente i soggetti sono analizzati in relazione ad archivi genetici molto grandi, bisogna però tenere sempre in considerazione che il risultato si basa su un modello di probabilità, inoltre purtroppo non tutti i laboratori di genetica molecolare che svolgono questo tipo di analisi, hanno a disposizione degli archivi genetici relativi alle numerose razze canine esistenti così ben rappresentati.

#### LA CONSANGUINEITÀ E LA PROBABILITÀ DI ESCLUSIONE DELLA PARENTELA ERRATA

Viene definita consanguineità la probabilità che un individuo presenti, nel suo patrimonio genetico due copie dello stesso allele allo stato omozigote e che tali alleli, ereditati dai genitori, siano derivanti da uno o più antenati comuni. I genetisti che si occupano di animali

si trovano spesso a dover valutare la consanguineità in relazione a quelle specie domestiche nelle quali viene praticata la selezione per il miglioramento genetico. Pertanto spesso si deve ricorrere alla valutazione della parentela genetica. Nella pratica si effettua una valutazione genetica della percentuale, in termini statistici, con la quale determinati geni provengono da un antenato. Si valuta sempre la probabilità di omozigosi relativa a determinati geni e/o marcatori che due animali imparentati accoppiandosi, trasferiscono ai figli. Questa probabilità è misurata dal coefficiente di consanguineità o di *inbreeding*. Il coefficiente di consanguineità di una popolazione è definito proporzionalmente dalla diminuzione dei soggetti eterozigoti a favore degli omozigoti ad ogni generazione ed è valutato anche con il parametro *Fis* (Wright, 1965). Se i genotipi si trasmettono nelle generazioni con una frequenza identica l'indice *Fis* risulta = 0. Ciò significa che la popolazione analizzata è in equilibrio (Hardy-Weinberg). Se invece la frequenza di un genotipo aumenta da una generazione all'altra, aumentando per uno o per più *loci* la percentuale di omozigoti, con mancato rispetto dell'equilibrio di Hardy-Weinberg, abbiamo l'aumento della consanguineità. In questo caso il parametro *Fis* ha valore positivo. Se il parametro *Fis* assume valori negativi siamo in presenza di nuove combinazioni alleliche, abbiamo cioè un aumento dell'eterozigosità e conseguentemente siamo in presenza di accoppiamenti casuali all'interno di una popolazione. Ovviamente in quest'ultimo caso la consanguineità diminuisce.

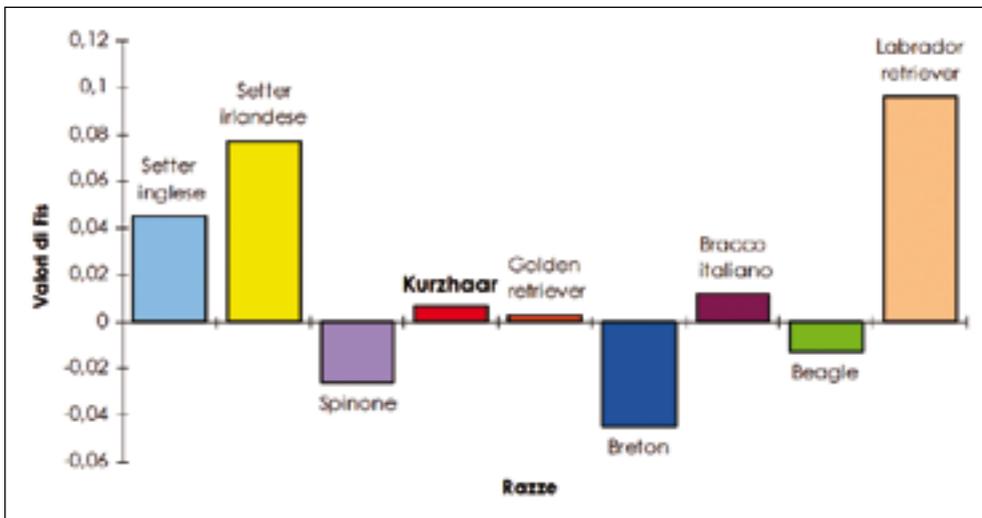


Fig 6. Esempio relativo al calcolo del parametro *Fis* in alcune razze canine. Se il valore di *Fis* è positivo la consanguineità aumenta. Se il parametro *Fis* assume valori negativi siamo invece in presenza di nuove combinazioni alleliche e quindi la consanguineità diminuisce

Oggi esistono numerosi *softwares* in grado di effettuare il calcolo del parametro *Fis* per l'utilizzo dei quali si rimanda a testi più specialistici. Analizzando un pannello di 24 marcatori microsatelliti, come di *routine*, è possibile valutare geneticamente in modo abbastanza attendibile una determinata popolazione animale. Mediante il parametro *Fis* è possibile monitorare la perdita di variabilità genetica in una determinata razza e conseguentemente l'aumento della consanguineità. L'eterozigosità è il parametro che stima il livello di variabilità genetica di una popolazione. In generale l'eterozigosità è la percentuale di alleli diversi ad uno stesso *locus* presenti in una popolazione ed il parametro eterozigosità media ( $H_e$ ) è la me-

dia delle eterozigotità calcolate per ogni *locus*. Questi concetti, nell'applicazione delle tecniche di biologia molecolare in ambito animale e dei possibili utilizzi nel campo forense, sono estremamente importanti. Tale importanza dipende dal fatto che nelle razze animali si assiste a situazioni di omozigosi e quindi alla perdita di variabilità genetica (consanguineità) con frequenza così elevata da non aver confronto in ambito umano. Va ricordato infatti che negli animali domestici più fortemente selezionati, con particolare riferimento ai cani e ai gatti, gli allevatori per fissare i caratteri desiderati fanno spesso ricorso ad accoppiamenti altamente inbreed che comportano un'aumento notevole dei livelli di consanguineità. Nelle razze canine

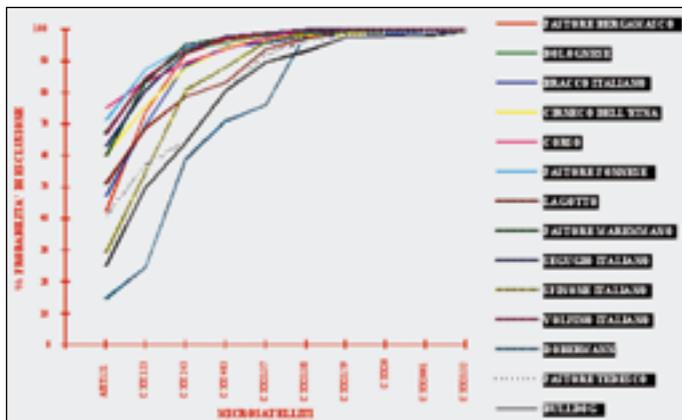


Fig 7. Esempio relativo alla probabilità di esclusione della parentela errata (PE) in differenti razze canine allevate in Italia: in ascissa sono rappresentati i 10 marcatori microsatelliti utilizzati e in ordinata la probabilità relativa all'aumentare dei microsatelliti utilizzati nella diagnosi. All'aumentare del numero di microsatelliti analizzati aumenta la probabilità di identificare una parentela errata nell'ambito di un gruppo familiare. Dal grafico si può intuire come in tutte le razze da analizzare si deve arrivare ad una probabilità superiore al 99%. Esistono comunque delle razze (Dobermann, Bulldog, Pastore tedesco) molto selezionate per le quali ad esempio 5 microsatelliti danno una PE vicina al 70%, mentre altre meno selezionate (Cane Corso, Pastore Bergamasco, ecc) dove con due microsatelliti si ottiene già una PE al di sopra del 80%. E' quindi fondamentale per eseguire una diagnosi di parentela o di identificazione di un soggetto in ambito forense negli animali, ricorrere il più possibile, la dove esiste consanguineità, ad un numero di marcatori sufficientemente elevato in relazione alla razza analizzata tendente al 99,9%.

parentela errata superiore al 99%. Nello stesso tempo devono essere tenuti ben presenti i valori della PE (probabilità di esclusione della parentela errata) e il PIC (polymorphism information content) dei microsatelliti. In ogni caso quando in una determinata specie animale esiste il sospetto di elevata consanguineità, documentata da un'alta frequenza allelica conviene sempre effettuare un'analisi con il più elevato numero di *microsatelliti* possibile (Fig 7 - 8).

Lo sviluppo delle tecnologie di analisi del DNA ha permesso un notevole progresso nel settore della genetica animale, mettendo a disposizione gli strumenti per la caratterizzazione del genoma delle singole specie. Ogni individuo presenta nel proprio DNA uno specifico codice

in alcuni casi è impossibile ritrovare dei soggetti non imparentati in seconda generazione (cioè con 4 nonni diversi). Per quanto sopra sottolineato, non deve essere assolutamente dimenticato che esiste una differenza estrema tra un meticcio, un cane di razza ed un cane di razza altamente selezionato. Esiste inoltre una significativa differenza fra le diverse razze animali da esaminare. Il classico esempio riguarda la specie canina: se si analizza un meticcio la variabilità genetica è sicuramente più elevata di quella riscontrabile in una razza in selezione, conseguentemente il numero di *microsatelliti* da analizzare per ottenere una buona probabilità di esclusione della parentela errata, o per individuare geneticamente un soggetto da un punto di vista forense, sarà maggiore nella razza selezionata che non nel meticcio. Questo concetto purtroppo viene spesso dimenticato e conseguentemente ci possono essere degli errori nell'identificazione di un soggetto e nella diagnosi di parentela. Conviene sempre analizzare un numero di *microsatelliti* sufficientemente elevato, tale da garantire un probabilità di esclusione della

che definisce la sua impronta genetica. Infatti, il profilo genetico di ogni individuo è praticamente unico. Questa caratteristica è alla base della metodologia utilizzata per determinare se due animali sono correlati geneticamente.

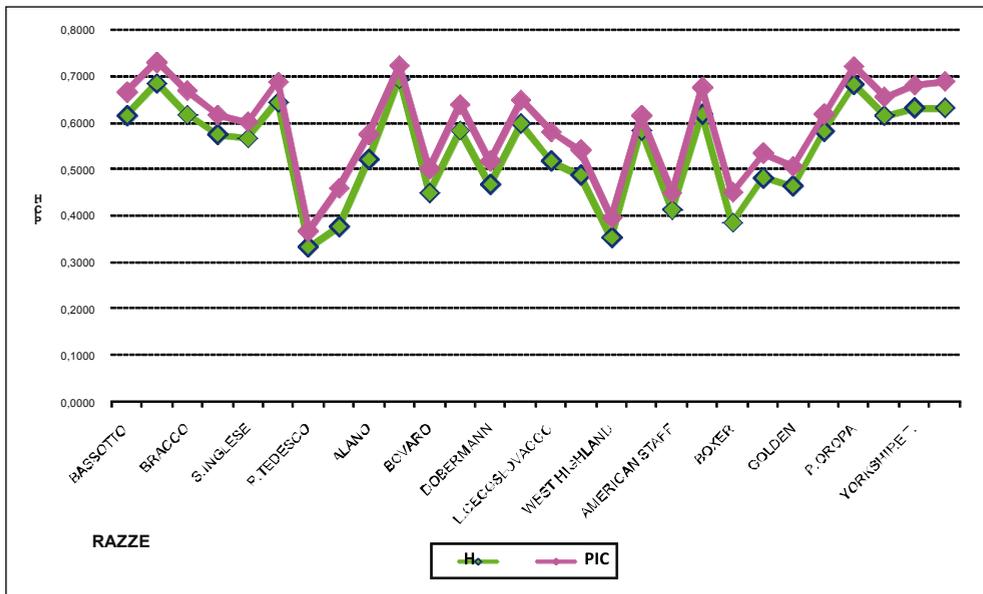


Fig 8: Andamento dell'eterozigosità (H) (linea verde) e del PIC (polymorphism information content) (linea rosa) nelle principali razze allevate in Italia. Là dove i valori di PIC e H risultano particolarmente inferiori alla norma significa che in quella razza la consanguineità è alta e quindi nelle diagnosi di parentela o di identificazione di determinati animali, devono essere analizzati un numero sufficientemente elevato di marcatori microsatelliti per avere un valore della probabilità di esclusione della parentela errata superiore al 99% (PE).

#### ATTRIBUZIONE PROBABILISTICA DI UN INDIVIDUO AD UNA POPOLAZIONE

In generale, utilizzando il genotipo multilocus derivante dall'analisi di 24 loci microsatelliti, è possibile, grazie ad opportuni softwares come ad esempio STRUCTURE 2.2 (Pritchard et al., 2000) o WhichRun 4.1 (Banks & Eichert, 2004), effettuare l'assegnazione di un individuo ad una popolazione oppure a più popolazioni se ci si trova di fronte a soggetti ottenuti da incroci di più razze. Per realizzare questo tipo di analisi di tipo probabilistico è necessario avere un database molto solido di diverse razze/popolazioni di riferimento costituite da un numero di soggetti non imparentati tra loro provenienti da diversi allevamenti, tutti con genotipo per lo stesso set di microsatelliti (di solito nel cane 24 microsatelliti). Il metodo che utilizzano questi programmi si basa su un modello di raggruppamento dei genotipi multilocus per dedurre prima la struttura delle popolazioni e poi assegnare un individuo in base alla porzione di genoma che condivide maggiormente con una o più popolazioni. Si assume un modello dove ci sono K popolazioni (ad es. K razze) ognuna delle quali caratterizzata da un set di frequenze alleliche per ogni locus. Gli individui vengono assegnati ognuno alla popolazione probabilisticamente più simile, o congiuntamente a due o più popolazioni se il loro genotipo indica che è misto (es. incrocio di razze diverse).

Data la disponibilità di circa 30.000 campioni appartenenti alle principali razze, è possibile provare a costituire le popolazioni di riferimento (razze) e quindi realizzare questo tipo di analisi che può essere di aiuto in casi dubbi di razza pura, tenendo presente che si tratta sempre di un approccio probabilistico.

## ANALISI DEL DNA NEL CANE PER LA DIAGNOSI DELLE MALATTIE EREDITARIE

Di particolare interesse ed attualità risultano le ricerche volte alla comprensione, a livello del DNA, dei principali disordini genetici che interessano molte tra le più diffuse razze canine, argomento strettamente correlato all'identificazione genetica dei riproduttori per il loro miglioramento genetico. Grazie alle nuove tecniche biomolecolari, soprattutto caratterizzate dal *sequenziamento* del DNA è stato possibile ottenere una valida sequenza del genoma che ha già consentito il riconoscimento di numerosi geni alla base di differenti malattie ereditarie che colpiscono in modo esclusivo molte razze.

Sono quindi oggi disponibili (anche in Italia presso alcuni laboratori di riferimento accreditati dall'ENCI) diversi test genetici basati sulle principali tecniche di biologia molecolare anche per l'identificazione delle più comuni patologie ereditarie del cane soprattutto a carattere autosomico dominante o recessivo.

Le tecniche diagnostiche basate sul DNA permettono di distinguere univocamente i soggetti malati o portatori della patologia di interesse. Nel caso di patologie ereditarie ad "insorgenza tardiva" cioè che si manifestano in età adulta o a "penetranza incompleta" che si manifestano solo in una parte dei soggetti con il genotipo difettoso, con l'analisi del DNA è possibile l'identificazione precoce alla nascita del soggetto sano, malato o portatore. Queste tecniche, congiuntamente all'identificazione del soggetto e all'analisi della parentela permettono l'esclusione dalla riproduzione degli animali malati o portatori e costituiscono pertanto un utile strumento nella convalida dei dati genealogici riportati nel pedigree con un enorme valore aggiunto per il miglioramento genetico. Dagli studi effettuati presso la Facoltà di Medicina Veterinaria di Milano (laboratorio Vetogene) si è potuto constatare un'elevata diffusione di molte patologie ereditarie soprattutto a carattere autosomico dominante o recessivo. Le malattie più studiate sono soprattutto le oculopatie, le neuropatie e le cardiopatie. Anche nel caso di nefropatie a trasmissione ereditaria più complessa (penetranza incompleta, insorgenza tardiva, sintomi ed espressività variabile) con l'analisi del DNA è possibile l'identificazione precoce alla nascita del soggetto sano, malato o portatore. Queste tecniche, pertanto sono un utile strumento nella convalida dei dati genealogici ed aggiungono una garanzia in più alla qualità del prodotto dell'allevamento del cane di razza.

Per le differenti malattie ereditarie autosomiche recessive o dominanti, esistono ormai molti laboratori di biologia molecolare internazionali di riferimento (vedi tab 5-6-7-8-9) che effettuano i test genetici richiesti. Purtroppo tali test riguardano per ora soprattutto le malattie ereditarie a trasmissione mendeliana semplice. Per quanto riguarda alcune forme ad eredità più complessa (malattie poligeniche/polifattoriali) come ad esempio la displasia dell'anca in alcune razze canine non esistono per ora riscontri efficaci a breve termine.

Le malattie ereditarie per le quali attualmente è possibile effettuare il controllo del DNA presso differenti laboratori sono soprattutto:

- Oculopatie
- Nefropatie
- Neuropatie
- Malattie metaboliche
- Cardiomiopatie

Nell'elenco (Tab 5-6-7-8-9) è indicato il nome della malattia e la razza colpita con il laboratorio internazionale di riferimento (sito web). Spesso una malattia ereditaria corrisponde alla sequenza di un gene difettoso relativo ad una determinata razza canina, il cui test molecolare è stato sottoposto a brevetto. Per questa ragione esistono i laboratori di riferimento per ciascuna malattia ereditaria.

È importante per i Medici Veterinari, soprattutto nelle forme autosomiche recessive, spiegare agli allevatori che con i test del DNA è possibile “gestire” la malattia in allevamento secondo la tabella 3, in modo da eliminare progressivamente i soggetti malati o portatori e favorendo gli accoppiamenti tra soggetti sani o tra soggetti sani e portatori, escludendo tutti gli altri tipi di accoppiamenti:

**Tab 3: Accoppiamenti consigliati nelle forme autosomiche recessive**

<b>GENITORI</b>	<b>FIGLI</b>	<b>ACCOPPIAMENTO</b>
sano x sano	tutti sani	SI
sano x portatore	50% sani e 50% portatori	SI
portatore x portatore	25% sani, 50% portatori%, 25% malati	NO
portatore x malato	50% portatori, 50% malati	NO
malato x malato	tutti malati	NO

Invece nelle forme autosomiche dominanti vanno favoriti solo gli accoppiamenti tra soggetti sani secondo il seguente schema (Tab. 4):

**Tab 4: Accoppiamenti consigliati nelle forme autosomi dominanti**

<b>GENITORI</b>	<b>FIGLI</b>	<b>ACCOPPIAMENTO</b>
sano x sano	tutti sani	SI
sano x malato	50% sani e 50% malati	NO

Fino ad oggi il “progetto di mappaggio del genoma” canino si è basato soprattutto sull’utilizzo dei “*microsatelliti*” per la saturazione della mappa e l’identificazione di marcatori da correlare con i geni responsabili delle principali malattie genetiche (mappa a bassa risoluzione). Nel cane è ora possibile disporre anche di una vera e propria sequenza del genoma, molto dettagliata ma non ancora del tutto completa, (mappa ad alta risoluzione) che ci permette di riconoscere direttamente i geni difettosi relativi a determinate malattie ereditarie e di monitorare in modo preciso fenomeni quali la perdita di eterozigotità e l’erosione genetica, nonché calcolare i coefficienti di consanguineità all’interno di una determinata popolazione canina. Le attuali tecniche di studio del DNA consentono inoltre l’identificazione genetica delle razze canine, dimostrando in modo efficace la loro identità ed un riconoscimento oggettivo della loro storia evolutiva.

## UNA TECNOLOGIA INNOVATIVA PER LA DIAGNOSI DI ALCUNE PATOLOGIE EREDITARIE NEL CANE: ARRAY PER IL GENOTYPING AD ALTA DENSITÀ

Gli array per il genotyping ad alta densità si sono affermati soprattutto nella ricerca umana come strumento prezioso per la mappatura di caratteri monofattoriali; anche negli animali da qualche anno sono utilizzati per l’analisi dei polimorfismi genetici (Schmitt et al., 2010). Un microarray a DNA (o DNA microarray o DNA chip) è costituito da un insieme di microscopiche sonde di DNA adese ad una superficie solida come vetro, plastica, o silicio forman-

ti un array (raggruppamento); essi consentono di analizzare contemporaneamente l'attività di decine di migliaia di geni (spesso anche tutto il patrimonio genetico di un organismo). Le sonde sono messe in una posizione nota su un supporto a formare una microgriglia che consente di identificarne l'identità e la posizione in modo univoco. Ogni sonda è costituita da un segmento di DNA a singola elica di un gene contenente uno SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*). I microarray sfruttano una proprietà importante del DNA: l'appaiamento tra basi complementari, che consiste nel fissare tutte le sonde di DNA su un supporto solido e nel marcare (con fluorescintatura), l'acido nucleico "target". L'emissione di fluorescenza è segno dell'avvenuta ibridazione sonda-target e cioè della presenza nel *target* dello SNP caratterizzante la sonda. La fluorescenza viene rilevata sul chip da uno scanner (che formerà una mappa di emissione) e successivamente verrà elaborata al computer con appositi software d'analisi. Nel caso del chip canino, la qualità delle annotazioni del genoma sono ancora lungi dall'essere complete, perciò le regioni che presentano annotazioni lacunose vengono dedotte dalle corrispondenti annotazioni sull'uomo. E' stato dimostrato (Charlier et al., 2008) che la disponibilità di array genome-wide ad alta densità di SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) accelera notevolmente l'identificazione posizionale dei geni e delle mutazioni causative nella maggior parte dei casi; gli SNPs sono una delle forme più comuni di variabilità genetica che può essere utilizzata per scoprire la sequenza di varianti che interessano singole malattie; ad esempio nel cane con un array da circa 27.000 SNP sono stati mappati i geni del *white spotting* nel Boxer e, della cresta di pelo dorsale nei Rhodesian Ridgeback con un numero abbastanza contenuto di soggetti informativi e in breve tempo (Karlsson et al., 2007). Sempre nel cane con *SNP array* sono state identificate mutazioni causali autosomiche recessive dell'*Hairless* (Cane Nudo del Messico) (Drogemuller et al., 2008), di un gene dell'ataxia progressiva cerebellare nell'Hound Finlandese ([www.ashg.org/2009meeting/abstracts/](http://www.ashg.org/2009meeting/abstracts/)) e del lupus eritematoso sistemico nel Retriever (Wilbe et al., 2010). L'utilizzo di array genome-wide associato ad analisi di Homozygosity Mapping si presta a essere quindi il metodo biotecnologico al momento più adatto per la ricerca per l'identificazione dei geni causativi di alcuni disordini ereditari nel cane.

Presso il laboratorio Vetogene spin-off dell'Università degli studi di Milano, a tal proposito è da pochi mesi in atto una ricerca (per ora molto incoraggiante) nel Rhodesian Ridgeback, per identificare il gene di una patologia ereditaria motorio-sensitiva conosciuta anche con il nome di Charcot – Marie – Tooth (CMT), dal nome dei ricercatori che per primi descrissero le caratteristiche cliniche di questo gruppo di patologie verso la fine del 1800 nell'uomo (Berger et al., 2006). Sulla base di criteri clinici, elettrofisiologici e istologici, le forme di CMT sono classificate in due grandi gruppi: forme demielinizzanti (CMT1, CMT3, CMT4) e assonali (CMT2). Esistono altre due forme: la forma legata al cromosoma sessuale X e quella a trasmissione dominante intermedia. Il deficit della mielina è seguito da degenerazione assonale accompagnata poi da atrofia muscolare. Le forme assonali della CMT invece, sono associate a una quasi normale NCV (NCV: >38 m/s), ma la perdita di fibre mielinizzate causa un'incapacità di conduzione nelle fibre nervose degenerate; il tutto porta poi a una riduzione del complesso di amplificazione del potenziale d'azione. In questi casi, i primi a essere colpiti sono gli assoni o i neuroni, e possono essere eventualmente seguiti da una demielinizzazione secondaria (Bonneick et al., 2005). Nel Rhodesian Ridgeback infatti sembra prevalere la forma "assonale" che da un punto di vista clinico presenta un lento e progressivo indebolimento e atrofia dei muscoli distali e prossimali degli arti, con perdita sensoriale, decremento o assenza totale dei riflessi tendinei profondi e deformità delle parti distali degli arti. Dopo biopsia, a livello istopatologico, si riscontra demielinizzazione con manifestazioni cliniche rappresentate soprattutto da fascicolazioni e tremori. La patologia, in tutte le sue forme, tende a manifestarsi sia in età giovane che adulta. La ricerca finora condotta è molto importante perchè rappresenta una delle prime applicazioni della nuova tecnologia *high through-put ge-*

*notyping* per la ricerca di tratti qualitativi nel cane. In particolare questo studio ha utilizzato per la prima volta il chip a 170.000 punti, di recentissimo rilascio. In questo caso la tecnologia è stata applicata all'identificazione di una forma di *CMT4-like* del Rhodesian Ridgeback. Nonostante il successo tecnico ottenuto nell'impiego del chip, non è stato per ora possibile individuare la mutazione causativa della patologia, infatti le regioni mappate in associazione col tratto fenotipico sono risultate troppo numerose (17 regioni). Nei casi più fortunati, soprattutto se la patologia è autosomica recessiva e la campionatura informativa, l'identificazione di una o poche regione contenenti geni candidati può essere raggiunta anche con un numero ridotto di campionature, permettendo così di "restringere il campo" e di poter proseguire nell'identificazione del gene causativo e della mutazione in tempi abbastanza rapidi. Nel nostro caso, oltre alla campionatura ridotta, l'alta consanguineità dei soggetti malati non ha consentito il raggiungimento pieno di quest'obiettivo. Per proseguire questo studio sarà quindi importante recuperare una maggior campionatura di soggetti malati sia entro che fuori la famiglia fin'ora considerata. In alternativa si cercherà di attuare una nuova tecnologia e cioè quella dell'analisi in "*silico*" delle 17 regioni candidate, per l'identificazione di geni che possano essere coinvolti nel percorso metabolico di formazione della mielina a livello del sistema nervoso periferico, e quindi nello sviluppo di forme di CMT e *CMT-like*. Questo approccio, che fin'ora ha presentato difficoltà legate soprattutto al non completo sequenziamento del genoma canino (Genome Coverage >98%), sarà nel brevissimo futuro sempre più agevolato dall'esponenziale aumento delle informazioni derivanti dagli studi nel settore ([www.broadinstitute.org/mammals/dog](http://www.broadinstitute.org/mammals/dog)). L'obiettivo finale, di cui questo studio rappresenta una prima fase, sarà quello di riconoscere geni/mutazioni causative della forma *CMT4-like* del cane per sviluppare test genetici di aiuto alla selezione. Ma una ricaduta certamente non secondaria potrebbe essere l'acquisizione di informazioni utili per la comprensione dei processi patogenetici di questo tipo di malattie in campo umano; quali per esempio l'identificazione di geni causativi o meccanismi genomici presenti nel cane e non ancora riportati nell'uomo.

## DIAGNOSI DI ALCUNE MALATTIE EREDITARIE NEL CANE ESEGUITE PRESSO IL LABORATORIO VETOGENE

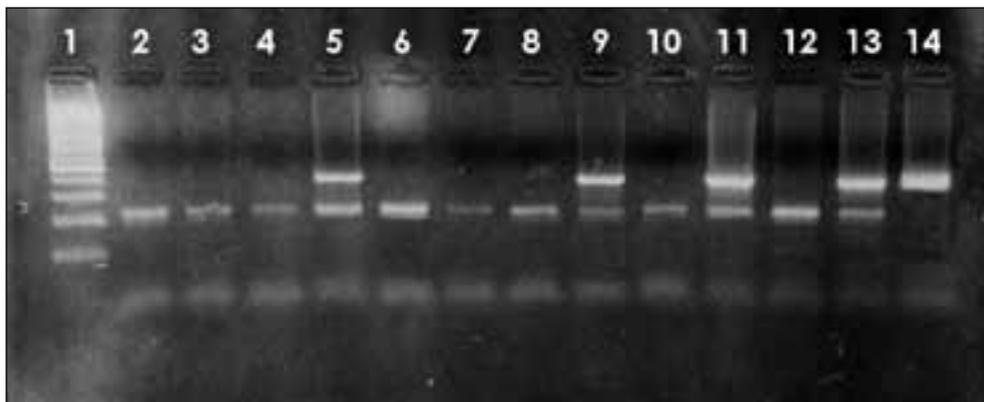
### ***Epidermolisi bollosa giunzionale (JEB) nel bracco tedesco***

L'epidermolisi bollosa (EB) è una malattia ereditaria della cute che colpisce l'uomo e gli animali domestici come, il cavallo, il bovino e alcune razze canine. Esistono diverse forme di questa patologia, ma il segno caratteristico sia nell'uomo che negli animali è la formazione di vescicole spontanee o conseguenti a traumi anche di lieve entità a livello della cute e delle mucose. Nell'uomo esiste un'ampia letteratura a proposito di questa patologia: sono state classificate forme di Epidermolisi Bollosa Semplice (EB), forme di tipo Giunzionale (JEB) e Distrofico (DEB). La forma che sembra però interessare maggiormente il cane è la forma cosiddetta di tipo "giunzionale", anche se è stata descritta una forma "distrofica" nell'Akita-Inu e nel Golden Retriever. I segni principali della patologia nel cane sono rappresentati da vescicole ed erosioni cutanee che possono anche regredire nel cane adulto.



*Fig 9: Tipiche lesioni a livello dei cuscinetti plantari di un Bracco tedesco (Foto Dott. Corrado Gilardoni)*

I cuccioli sviluppano già alla nascita delle vescicole che successivamente si trasformano in ulcere profonde, le aree più interessate sono i polpastrelli, il muso, la regione genitale, e la mucosa orale. Le vescicole spesso scaturiscono da minimi traumi e pertanto possono in teoria colpire tutte le regioni cutanee o mucose. Spesso i cuccioli in alcune razze canine muoiono dopo poche ore dalla nascita. L'epidermiolisi bollosa è una tipica dermatosi "razziale", perché si presenta esclusivamente in alcune razze canine. Il cane da ferma tedesco a pelo corto (Kurzhaar) è sicuramente la razza più colpita da questa patologia nella forma di Epidermiolisi Bollosa Giunzionale (JEB) Fig 9. Le ricerche eseguite finora hanno consentito la messa a punto di un efficace test diagnostico per l'identificazione di soggetti portatori. A tal proposito è stato allestito un protocollo di PCR *Polymerase Chain Reaction* per l'amplificazione specifica dell'allele sano e dell'allele malato (Gene LAMA3) (patent n° **MI2007A000036**) (Fig. 10).



*Fig 10: Analisi del DNA con PCR (Polymerase chain reaction) e successiva elettroforesi di alcuni soggetti di razza Kurzhaar: I soggetti n 2-3-4-6-8-6-10-12 sono sani (una singola banda), i soggetti 5-9-11-13 sono portatori (due bande), mentre il solo soggetto 14 risulta malato (una singola banda con peso differente rispetto a quella dei soggetti sani).*

L'analisi del DNA permette di riconoscere i soggetti portatori, sani, e malati in età precoce rendendo possibile l'attuazione di programmi selettivi per la completa eradicazione della malattia nelle principali razze canine interessate da questa patologia. Attualmente presso il laboratorio Vetogene sul totale dei riproduttori controllati in Italia la prevalenza dei portatori è risultata essere del 21,6% (Fig. 11).

### **La cistinuria nel cane di razza Terranova**

Quando a livello dei tubuli renali alcuni meccanismi di trasporto vengono a mancare, si ha la perdita di aminoacidi con le urine. Uno in particolare, la cistina, se eliminato in grande concentrazione può provocare notevoli danni, in quanto accumulandosi, può dare luogo alla formazione di agglomerati, cristalli o calcoli urinari che si possono localizzare a livello renale o nella vescica. I calcoli, di dimensioni ragguardevoli, si accumulano molto spesso nella vescica e possono essere eliminati dalle femmine che hanno un'uretra più corta e dilatabile, a differenza dei cani maschi, che a causa dell'osso penieno, presentano un restringimento non dilatabile dell'uretra dove questi calcoli si possono impegnare provocando ostruzione delle vie urinarie con possibile grave danno renale. La malattia è ereditaria, autosomica recessiva, e si evidenzia clinicamente solo negli individui omozigoti, cioè in coloro che ricevono l'allele sia dalla madre che dal padre, mentre negli altri individui con un solo allele, i portatori, non si hanno sintomi. Il test del DNA oggi disponibile presso il laboratorio Vetogene (Fig 12), permette il riconoscimento precoce di tutti i soggetti, portatori, sani o malati a qualsiasi età, permettendo di selezionare consapevolmente i soggetti sani rispetto ai soggetti malati o portatori già alla nascita. Il cane di razza Terranova è sicuramente la razza più colpita da questa patologia, fortunatamente gli intensi controlli genetici voluti dai differenti club di razza hanno consentito una drastica riduzione dei portatori sani di questa malattia ereditaria (Fig 13).

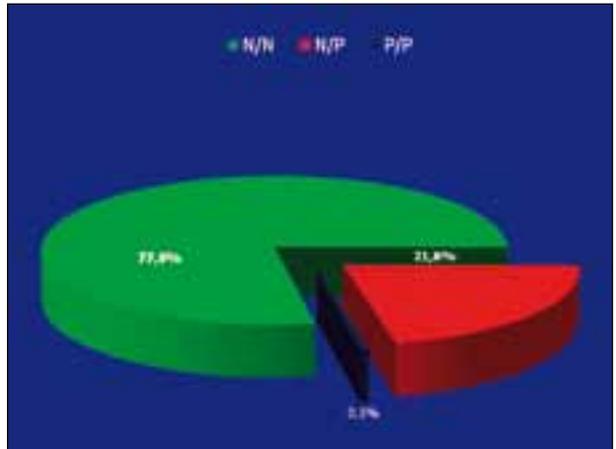


Fig 11: Percentuale di cani sani (N/N), malati (P/P) e portatori (N/P) riscontrati nella popolazione italiana di Kurzhaar presso il laboratorio Vetogene.

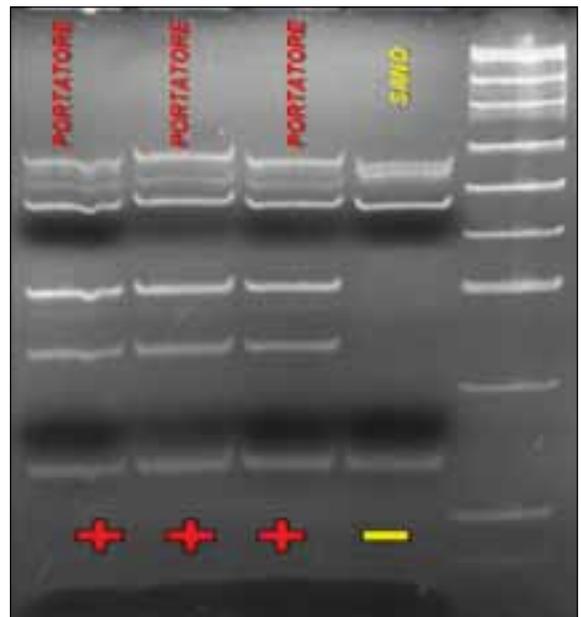


Fig 12: Analisi del DNA con PCR (Polymerase chain reaction) e successiva elettroforesi di alcuni soggetti di razza terranova: I soggetti contrassegnati dal segno + sono portatori, mentre i soggetti contrassegnati dal segno meno sono sani

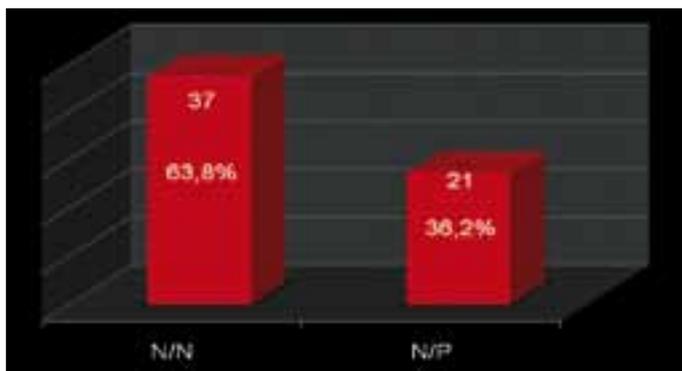


Fig 13: Percentuale di cani sani, malati e portatori riscontrati nella popolazione italiana di terranova nell'anno 2009

### *Atrofia progressiva della retina*

La retina è la più interna delle tre tonache del globo oculare e rappresenta l'organo fotorecettore degli stimoli visivi. Presenta uno strato esterno pigmentato (epitelio pigmentato o RPE) ed una lamina interna (retina nervosa) che può essere considerata una regione molto specializzata del sistema nervoso centrale. Anatomicamente la retina nervosa può essere considerata a sua volta come composta da diversi strati, tra cui quello contenente i coni ed i bastoncelli, ovve-

ro le cellule fotorecetrici propriamente dette e responsabili, rispettivamente, della visione diurna e della visione notturna (<http://webvision.med.utah.edu/imageswv/Sagschem.jpeg>).

Nell'uomo come nel cane sono molte le patologie che determinano una degenerazione dei coni e dei bastoncelli, con conseguente perdita della visione. Tra queste è compreso il gruppo di patologie indicate in medicina umana con il termine di "retinite pigmentosa" (RP), forme degenerative a carattere ereditario e con andamento progressivo. Nonostante molti geni responsabili di diverse forme di RP e il loro ruolo nello sviluppo della patologia siano conosciuti (<http://www.sph.uth.tmc.edu/RetNet/>), molti altri sono ancora oggetto di studio, soprattutto per quello che riguarda il complesso percorso metabolico di molecole coinvolte nello sviluppo della sintomatologia. In quest'ultimo gruppo si può collocare anche la retinite pigmentosa legata al cromosoma X (X-linked Retinitis Pigmentosa o XLRP) che colpisce il siberian husky, una patologia causata dalla presenza di mutazioni causative nel gene regolatore della RP *GTPasi (RPGR)* (Meindl *et al* 2006). Mutazioni concentrate soprattutto nell'esone ORF15 di questo gene sono responsabili circa 8-25% di tutti i casi di diagnosticata retinite pigmentosa (Ferreira 2005; Bader *et al* 2003) ed è noto come mutazioni spontanee a carico di *RPGRORF15* siano presenti sia nell'uomo che nel cane (Vervoort *et al* 2000; Zhang *et al* 2002). Recentemente Beltram *et al* (2006) hanno dimostrato come XLRP trovi il suo omologo nell'Atrofia Progressiva della Retina di tipo 2 del cane, patologia legata anche in questa specie al cromosoma X e conosciuta come XLPRA2. Esistono due forme di XLPRA: quella di tipo 1, caratterizzata da insorgenza relativamente tardiva, o comunque successiva al raggiungimento del completo sviluppo retinico, e quella di tipo 2, caratterizzata da un imponente degenerazione dei coni e dei bastoncelli, insorgenza precoce e andamento progressivo (Zhang *et al* 2002). Per lungo tempo si è ritenuto fosse una patologia a carattere recessivo (le femmine portatrici danno vita a maschi affetti), l'individuazione di linee di sangue in cui anche le femmine presentavano la sintomatologia ha però portato ad ipotizzare che si tratti di un gene con ad espressione semidominante (Zhang *et al* 2002).

Nel 2010 Genini e colleghi dell'Università della Pennsylvania hanno valutato l'espressione di diversi geni in cani che fossero affetti da XLPRA2 e presentassero la mutazione causativa a livello di *RPGRORF15*. I dati così ottenuti hanno mostrato come numerosi geni, fino a quel momento ritenuti essere non direttamente coinvolti nello sviluppo della patologia, fossero più strettamente coinvolti in animali affetti rispetto ad animali sani.

Attualmente come mostrato nella tabella 8 sono molteplici i test per l'atrofia progressiva della retina disponibili presso differenti laboratori internazionali a seconda della razza interessata e quindi a seconda del gene coinvolto.

**Tab 5: principali malattie metaboliche ereditarie diagnosticabili presso differenti laboratori internazionali**

Malattia	Razza	Laboratorio	Siti web laboratori
GENE PER LA RESISTENZA AI FARMACI MDR1 (multiple drug resistance gene)	Australian Shepherd, Border Collie, Collie, Shetland Sheepdog	Health Gene Veterinary Clinical Pharmacology Lab	<a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#healthgene">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#healthgene</a> <a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#vcpl">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#vcpl</a>
DEFICIT DELLA PIRUVATO DEIDROGENASI Pyruvate Dehydrogenase Phosphatase Deficiency (PDH, PDP-1)	Clumber Spaniel, Sussex Spaniel	Animal Health Trust UK Animal Molecular Genetics Lab VetGen	<a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#ahtuk">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#ahtuk</a> <a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#amgl">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#amgl</a> <a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#vetgen">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#vetgen</a>
DEFICIT DELLA PIRUVATO CHINASI Pyruvate Kinase Deficiency	Basenji	Animal Molecular Genetics Lab	<a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#amgl">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#amgl</a>
	American Eskimo Dog, Basenji, Beagle, Chihuahua, Dachshund, West Highland White Terrier	HealthGene Optigen PennGen Veterinary Diagnostics Center VetGen	<a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#healthgene">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#healthgene</a> <a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#optigen">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#optigen</a> <a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#penngen">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#penngen</a> <a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#vdc">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#vdc</a> <a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#vetgen">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#vetgen</a>
DEFICIT DELLA FOSFOFRUTTO CHINASI Phosphofruktokinase Deficiency	English Springer Spaniel	Animal Molecular Genetics Lab	<a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#amgl">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#amgl</a>
	Cocker Spaniel, English Springer Spaniel, Mixed Breeds	HealthGene Optigen PennGen Veterinary Diagnostics Center VetGen	<a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#healthgene">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#healthgene</a> <a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#optigen">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#optigen</a> <a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#penngen">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#penngen</a> <a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#vdc">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#vdc</a> <a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#vetgen">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#vetgen</a>
IPERPARATIROIDISMO PRIMARIO Primary Hyperparathyroidism	Keeshond	Cornell University	<a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#cornell">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#cornell</a>
Copper Toxicosis	Bedlington Terrier	Animal Health Trust UK VetGen	<a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#ahtuk">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#ahtuk</a>
IDROSSIGLUTARICO ACIDURIA L2HGA—L2 Hydroxyglutaric Aciduria	Staffordshire Bull Terrier	Animal Health Trust UK Animal Molecular Genetics Lab	<a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#ahtuk">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#ahtuk</a> <a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#amgl">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#amgl</a>
MALASSORBIMENTO DI COBALAMINA Cobalamin Malabsorption	Giant Schnauzer	PennGen	<a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#penngen">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#penngen</a>

**Tab 6: Principali nefropatie ereditarie diagnosticabili presso differenti laboratori internazionali**

Malattia	Razza	Laboratorio	Siti web laboratori
Cistinuria	Terranova Labrador Retriever Landseer	Vetogene , Antagene, PennGen Laboratories, DDC Veterinary HealthGene, Veterinary Diagnostics Center , Optigen, , VetGen, LLC, LGS	<a href="http://www.vetogene.com/">http://www.vetogene.com/</a> <a href="http://antagene.com/">http://antagene.com/</a> <a href="http://research.vet.upenn.edu/penngen">http://research.vet.upenn.edu/penngen</a> <a href="http://www.vetdnacenter.com/">http://www.vetdnacenter.com/</a> <a href="http://healthgene.com/">http://healthgene.com/</a> <a href="http://www.vetdnacenter.com/">http://www.vetdnacenter.com/</a> <a href="http://www.optigen.it/">http://www.optigen.it/</a> <a href="http://www.vetgen.com/">http://www.vetgen.com/</a> <a href="http://www.llc.it/">http://www.llc.it/</a> <a href="http://www.lgscr.it/it/dnacani.htm">http://www.lgscr.it/it/dnacani.htm</a>
Sindrome Fanconi	Basenji	Orthopedic Foundation for Animals / Missouri PennGen Laboratories	<a href="http://www.manta.com/c/mmqj1bv/orthopedic-foundation-for-animals">http://www.manta.com/c/mmqj1bv/orthopedic-foundation-for-animals</a> <a href="http://research.vet.upenn.edu/penngen">http://research.vet.upenn.edu/penngen</a>

Malattia	Razza	Laboratorio	Siti web laboratori
Iperuricosuria	Terrier russo nero Bulldog Dalmata Weimaraner Jack Russel/Parson Terrier Pastore Tedesco Schnauzer	Veterinary Genetics Laboratory	<a href="http://www.vgl.ucdavis.edu/">http://www.vgl.ucdavis.edu/</a>
Nefrite ereditaria	Samoiedo Cocker Spaniel inglese e Bull Terrier	VetGen	<a href="http://www.vetgen.com/">http://www.vetgen.com/</a>
Displasia renale (RD/JRD)	molte razze	DOGenes Dna-Dog	<a href="http://www.dogenes.com/">http://www.dogenes.com/</a> <a href="http://www.mitochondrialdnatesting.com/dna-dog-breeds.html">http://www.mitochondrialdnatesting.com/dna-dog-breeds.html</a>
Nefropatia familiare	Cocker Spaniel inglese	Optigen, LLC	<a href="http://www.optigen.it/">http://www.optigen.it/</a> <a href="http://www.llc.it/">http://www.llc.it/</a>
Malattia policistica renale del gatto (PKD1)		Vetogene , Antagene , Veterinary Genetics Laboratory, DDC Veterinary	<a href="http://www.vetogene.com/">http://www.vetogene.com/</a> <a href="http://antagene.com/">http://antagene.com/</a> <a href="http://www.vgl.ucdavis.edu/">http://www.vgl.ucdavis.edu/</a> <a href="http://www.vetdnacenter.com/">http://www.vetdnacenter.com/</a>

**Tab 7: Principali neuropatie ereditarie diagnosticabili presso differenti laboratori internazionali**

Malattia	Razza	Laboratorio	Siti web laboratori
MIOPATIA NUCLEARE CENTRALE Central Nuclear Myopathy (CNM)	Labrador Retriever	Alfort School of Veterinary Medicine Animal Health Trust UK VetGen Veterinary Diagnostics Center	<a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#alfort">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#alfort</a> <a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#ahtuk">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#ahtuk</a> <a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#vdc">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#vdc</a>
ATASSIA CEREBELLARE Cerebellar Ataxia	Italian Spinone	Animal Health Trust UK	<a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#ahtuk">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#ahtuk</a>
LIPOFUSCINOSI Ceroid Lipofuscinosis	Border Collie	Animal Health Trust UK	<a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#ahtuk">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#ahtuk</a>
NARCOLESSI Narcolepsy	Dachshund, Doberman Pinscher, Labrador Retriever	Optigen	<a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#optigen">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#optigen</a>
MIELOPATIA DEGENERATIVA Degenerative Myelopathy	American Eskimo Dog, Bernese Mountain Dog, Boxer, Cardigan Welsh Corgi, Chesapeake Bay Retriever, German Shepherd Dog, Golden Retriever, Great Pyrenees, Kerry Blue Terrier, Pembroke Welsh Corgi, Poodle, Pug, Rhodesian Ridgeback, Shetland Sheepdog, Soft Coated Wheaten Terrier, Wire Fox Terrier	OFA LGC	<a href="http://www.offa.org/dnatesting/">http://www.offa.org/dnatesting/</a> <a href="http://www.lgscr.it/it/dnacani.htm">http://www.lgscr.it/it/dnacani.htm</a>
FUCOSIDOSI Fucosidosis	English Springer Spaniel	Animal Health Trust UK PennGen	<a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#ahtuk">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#ahtuk</a> <a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#penngen">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#penngen</a>
MUCOPOLISACCARIDOSI TIPO III B MPS IIIB	Schipperke	PennGen	<a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#penngen">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#penngen</a>
MUCOPOLISACCARIDOSI TIPO VI MPS VI	Miniature Pinscher	PennGen	<a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#penngen">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#penngen</a>
MUCOPOLISACCARIDOSI TIPO VII MPS VII	German Shepherd	PennGen	<a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#penngen">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#penngen</a>

Malattia	Razza	Laboratorio	Siti web laboratori
ENCEFALOPATIA NEONATALE Neonatal Encephalopathy with Seizures (NEwS)	Poodle	OFA VetGen	<a href="http://www.offa.org/dnatesting/">http://www.offa.org/dnatesting/</a> <a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#vetgen">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#vetgen</a>
ATASSIA CEREBELLARE NCL-A (Cerebellar Ataxia)	American Staffordshire Terriers	Optigen	<a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#optigen">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#optigen</a>
ATASSIA CEREBELLARE NEONATALE Neonatal Cerebellar Ataxia	Coton de Tulear	OFA	<a href="http://www.offa.org/dnatesting/">http://www.offa.org/dnatesting/</a>
LIPOFUSCINOSI NEURONALE Neuronal Ceroid Lipofuscinosis (NCL)	American Bulldog, Dachshund, English Setter	Animal Molecular Genetics Lab	<a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#amgl">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#amgl</a>
	American Bulldog, Tibetan Terrier	OFA	<a href="http://www.offa.org/dnatesting/">http://www.offa.org/dnatesting/</a>
	American Bulldog, English Setter	VetGen	<a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#vetgen">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#vetgen</a>
SMA Spinal Muscular Atrophy	Main Coon	Vetogene	<a href="http://www.vetogene.com/">http://www.vetogene.com/</a>
MIOTONIA CONGENITA Myotonia Congenita	Miniature Schnauzer	HealthGene PennGen	<a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#healthgene">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#healthgene</a> <a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#penngen">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#penngen</a>
GLICOGENOSI TIPO IIIa Glycogen Storage Disease Type IIIa (GSD IIIa)	Curly Coated Retriever	Michigan State University	<a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#msu">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#msu</a>
GM 1 Storage Disease	Portuguese Water Dog	Neurogenetics Laboratory HealthGene	<a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#nl">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#nl</a> <a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#healthgene">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#healthgene</a>

**Tab 8: Principali oculopatie ereditarie diagnosticabili presso differenti laboratori internazionali**

Malattia	Razza	Laboratorio	Siti web laboratori
RETINOPATIA MULTIFOCAL CANINA Canine Multifocal Retinopathy (CMR)	Mastiff, Bullmastiff, Great Pyrenees, Dogue De Bordeaux, Coton de Tulear	Optigen	<a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#optigen">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#optigen</a>
ANOMALIA OCULARE DEL COLLIE Collie Eye Anomaly	Australian Shepherd, Border Collie, Rough & Smooth Collie, Nova Scotia Duck Tolling Retriever, Shetland Sheepdog	Optigen	<a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#optigen">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#optigen</a>
DEGENERAZIONE DEI CONI Cone Degeneration	German Shorthaired Pointer	Optigen	<a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#optigen">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#optigen</a>
LUSSAZIONE PRIMARIA DEL CRISTALLINO Primary Lens Luxation (PLL)	Australian Cattle Dog, Chinese Crested, Jack Russell Terrier, Lancashire Heeler, Miniature Bull Terrier, Parson Russell Terrier, Russell Terrier, Sealyham Terrier, Tibetan Terrier, Welsh Terrier	OFA	<a href="http://www.offa.org/dnatesting/">http://www.offa.org/dnatesting/</a>

Malattia	Razza	Laboratorio	Siti web laboratori
ATROFIA PROGRESSIVA DELLA RETINA Progressive Retinal Atrophy	Dachshund, English Springer Spaniel, Irish Red & White Setter American Eskimo Dog, Australian Cattle Dog, Bullmastiff, Cardigan Welsh Corgi, Chesapeake Bay Retriever, Chinese Crested, Cocker Spaniel, English Cocker Spaniel, Entlebucher, Finnish Lapphund, Irish Red and White Setter, Irish Setter, Kuvasz, Labrador Retriever, Mastiff, Miniature Schnauzer, Nova Scotia Duck Tolling Retriever, Poodle, Portuguese Water Dog, Samoyed, Siberian Husky, Sloughi, Swedish Lapphund	Animal Health Trust UK Animal Molecular Genetics Lab HealthGene Optigen	<a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#ahtuk">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#ahtuk</a> <a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#amgl">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#amgl</a> <a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#healthgene">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#healthgene</a> <a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#optigen">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#optigen</a>
DISPLASIA DELLA RETINA Retinal Dysplasia (RD/OSD)	Labrador Retriever, Samoyed	Optigen	<a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#optigen">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#optigen</a>
CECITA' NOTTURNA CONGENITA Congenital Stationary Night Blindness (CSNB)	Briard	Animal Health Trust UK HealthGene Optigen	<a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#ahtuk">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#ahtuk</a> <a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#healthgene">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#healthgene</a> <a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#optigen">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#optigen</a>
CATARATTA GIOVANILE EREDITARIA Hereditary Juvenile Cataracts	Australian Shepherd, French Bulldog, Staffordshire Bull Terrier	Animal Health Trust UK	<a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#ahtuk">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#ahtuk</a>
	Boston Terrier, French Bulldog, Staffordshire Bull Terrier	VetGen	<a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#vetgen">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#vetgen</a>
	Boston Terrier	Animal Genetic Testing & Research Lab	<a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#agtrl">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#agtrl</a>

**Tab 9: principali cardiomiopatie ereditarie diagnosticabili presso differenti laboratori internazionali**

Malattia	Razza	Laboratorio	Siti web laboratori
CARDIOMIOPATIA VENTRICOLARE Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy	Boxer	Veterinary Cardiac Genetics Laboratory	<a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#vcgl">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#vcgl</a>
COLLASSO INDOTTO DALL'ESERCIZIO Exercise Induced Collapse	American Eskimo Dog, Bernese Mountain Dog, Boxer, Cardigan Welsh Corgi, Chesapeake Bay Retriever, German Shepherd Dog, Golden Retriever, Great Pyrenees, Kerry Blue Terrier, Pembroke Welsh Corgi, Poodle, Pug, Rhodesian Ridgeback, Shetland Sheepdog, Soft Coated Wheaten Terrier, Wire Fox Terrier	OFA	<a href="http://www.offa.org/dnatesting/">http://www.offa.org/dnatesting/</a>
CARDIOMIOPATIA DILATATIVA GIOVANILE Juvenile Dilated Cardiomyopathy (JDCM)	Portuguese Water Dog	PennGen	<a href="https://secure.offa.org/dnatest_1.html#penngen">https://secure.offa.org/dnatest_1.html#penngen</a>

## BIBLIOGRAFIA

- 1) Banks MA, Eichert W, Olsen J.B. Bioinformatics. Which genetic loci have greater population assignment power.2003 Jul 22;19(11):1436-8
- 2) Beltran WA, Hammond P, Acland GM, and Aguirre GD (2006) “A frameshift mutation in RPGR exon ORF15 causes photoreceptor degeneration and inner retina remodeling in a model of X-linked retinitis pigmentosa”. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 47(4):1669-81
- 3) Berger P, Tersar K., Ballmer-Hofer K., Suter U. The CMT4B disease-causing proteins MTMR2 and MTMR13/SBF2 regulate AKT signalling. *Journal of cellular and molecular medicine* 2009 Nov 13
- 4) Charlier C., Coppeters W., Rollin F., Desmecht D., Agerholm J. S., Cambisano N., Carta E., Dardano S., Dive M., Fasquelle C., Frennet J. C., Hanset R., Hubin X., Jorgensen C., Karim L., Kent M., Harvey K., Pearce B. R., Simon P., Tama N., Nie H., Vandeputte S., Lien S., Longeri M., Fredholm M, Harvey R. J., Georges M. Highly effective SNP-based association mapping and management of recessive defects in livestock. *Nature genetics* 2008 Apr;40(4):449-54
- 5) Drogemuller C., Karlsson E. K., Hytonen M. K., Perloski M., Dolf G., Sainio K., Lohi H., Lindblad-Toh K., Leeb T. A mutation in Hairless Dogs Implicates FOXI3 in Ectodermal Development. *Science* 2008 Sep 12;321(5895):1462
- 6) Ferreira P A, (2005). “Insights into X-linked retinitis pigmentosa type 3, allied diseases and underlying pathomechanisms” *Hum Mol Gen* 14 (Spec No. 2) pp. R259–R267
- 7) Genini S, Zangerl B, Slavik J, Acland GM, Beltran WA, and Aguirre GD (2010) “Transcriptional profile analysis of RPGRORF15 frameshift mutation identifies novel genes associated with retinal degeneration” *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 51(11): 6038-50.
- 8) Karlsson E. K., Baranowska I., Wade C. M., Salmon Hillbertz N. H. C., Zody M. C., Anderson N., Biagi T. M., Patterson N., Rosengren Pielberg G., Kulbokas III E. J., Comstock K. E., Keller E. T., Mesirov J. P., Von Euler H., Kampe O., Hedhammar A., Lander E. S., Andersson G., Andersson L., Lindblad-Toh K. Efficient mapping of mendelian traits in dogs through genome-wide association. *Nature genetics* 2007 Nov;39(11):1321-8
- 9) Meindl A, Dry K, Herrmann K, Manson F, Ciccodicola A, Edgar A, and Carvalho, MRS, et al. (1996). “A gene (RPGR) with homology to the RCC1 guanine nucleotide exchange factor is mutated in X-linked retinitis pigmentosa (RP3)” *Nat Genet* 13, 35–42)
- 10) Pritchard J.K., Stephens M, Donnelly: Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. *Genetics*, Vol. 155, 945-959, June 2000
- 11) Schmitt A. O., Bortfeldt R. H., Brockmann G. A. Tracking chromosomal positions of oligomers – a case study with Illumina’s Bovine SNP50 beadchip. *BMC Genomics* 2010 Feb 1;11:80
- 12) Vervoort R, Lennon A, Bird AC, Tulloch B, Axton R, Miano MG, Meindl A, Meitinger T, Ciccodicola A and Wright AF (2000). “Mutational hot spot within a new RPGR exon in X-linked retinitis pigmentosa” *Nat Genet* 25,462–6
- 13) Wilbe M., Jokinen P., Truvé K., Seppala E. H., Karlsson E. K., Biagi T., Hughes A., Bannasch D., Andersson G., Hansson-Hamlin H., Lohi H., Lindblad-Toh K. Genome-wide association mapping identifies multiple loci for a canine SLE-related disease complex. *Nature genetics* 2010 Mar;42(3):250-4
- 14) Wright: The Interpretation of Population Structure by F-Statistics with Special Regard to Systems of Mating Author(s): Sewall Wright Source: *Evolution*, Vol. 19, No. 3 (Sep., 1965), pp. 395-420
- 15) Zhang Q, Acland GM, Wu WX, Johnson J, Pearce-Kelling S, Tulloch B, Vervoort R, Wright AF and Aguirre GD (2002). “Different RPGR exon ORF15 mutations in Canids provide insights into photoreceptor cell degeneration” *Hum. Mol. Genet.* 11 (9): 993-1003



**Tipografia  
Camuna**S.p.A.

*Finito di stampare da*

Tipografia Camuna S.p.A. - Breno (Bs)

Centro Stampa di Brescia

nel mese di aprile 2011

*Informazione ecologica:*

pubblicazione stampata con assenza di esalazioni alcoliche

**Sistema Cesium®** brevetto **Philip Borman Italia**

ISBN 978-88-904416-7-7



9 788890 441677