

Determinazione di residui di tireostatici in tiroidi di feti bovini abortiti e rilievi anatomico-istopatologici

Autor(en): **Gennaro Soffiatti, M. / Nebbia, C. / Biolatti, B.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Schweizer Archiv für Tierheilkunde SAT : die Fachzeitschrift für Tierärztinnen und Tierärzte = Archives Suisses de Médecine Vétérinaire ASMV : la revue professionnelle des vétérinaires**

Band (Jahr): **123 (1981)**

PDF erstellt am: **20.06.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-593610>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Schweiz. Arch. Tierheilk. 123, 655–662, 1981

Università degli Studi di Torino
 Istituto di Patologia generale, Anatomia patologica e Patologia aviare
 (Direttore: Prof. F. Guarda); Cattedra di Tossicologia Veterinaria
 (Titolare: Prof. M. Gennaro Soffietti);
 Istituto di Chimica Organica (Direttore: Prof. J. Degani)

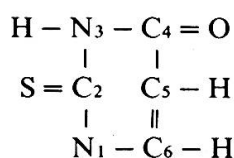
Determinazione di residui di tireostatici in tiroidi di feti bovini abortiti e rilievi anatomo-istopatologici¹

Gennaro Soffietti M.², Nebbia C., Biolatti B., Angeletti E.

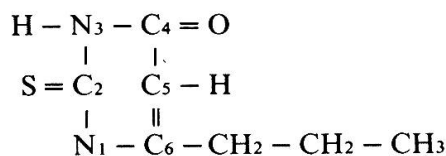
Introduzione

A complemento di ricerche preliminari eseguite sulle tiroidi di feti bovini abortiti provenienti da aree ad allevamento intensivo (*Guarda* e coll., 1981) abbiamo ritenuto opportuno abbinare alle indagini microbiologiche ed anatomo-istopatologiche, ricerche di tipo chimico per evidenziare la presenza di eventuali residui di sostanze ad azione tireostatica, in quanto l'esame chimico risulta più preciso di quello istologico (*Pottie*, 1979). Come è noto, infatti, l'ipotiroidismo nei ruminanti può essere causa di aborti e di nascite di vitelli deboli e poco vitali (*Wilson*, 1975).

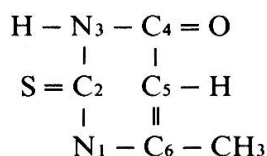
Fra le numerose sostanze ad azione tireostatica abbiamo preso in considerazione i derivati del tiouracile ed i derivati tiocarbamici.



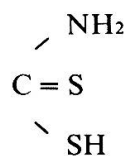
2-TIOURACILE



6-PROPIL-2 TIOURACILE



6-METIL-2 TIOURACILE



ACIDO DITIOCARBAMICO

¹ Lavoro effettuato nell'ambito dell'unità di ricerca del gruppo Scienze Veterinarie del CNR.

² Indirizzo: Prof. M. Gennaro Soffietti, Via Nizza 52, I-10126 Torino

I primi vengono ampiamente usati a scopo fraudolento (*D. M.* 15. 1. 1969) per la loro azione positiva sull'incremento ponderale (*Brüggemann* e coll., 1962; *Terplan* e coll., 1964) e sono in grado, se somministrati a bovine gravide, di provocare aborto e gozzo nel feto (*Tiecco* e *Valfrè*, 1970).

I secondi sono largamente impiegati in agricoltura come fungicidi e possono facilmente ritrovarsi sui foraggi come contaminanti (*Engst* e *Schnaak*, 1974).

Inoltre, in precedenti esperimenti da noi effettuati sui conigli con etilenbisditio-carbamento di zinco, sono stati evidenziati casi di aborto e di infertilità in seguito ad intossicazione cronica (*Gennaro* e coll., in corso di stampa). I residui dei derivati tiouracilici (*Böhnel*, 1966) e tiocarbamici (*Gennaro*, 1978) si accumulano in modo particolare a livello tiroideo essendo la tiroide l'organo bersaglio.

Parte sperimentale

Analisi chimiche

La determinazione chimica è stata effettuata su 50 tiroidi prelevate da un totale di 80 tiroidi precedentemente sottoposte ad esami istopatologici. Il criterio di scelta si è basato sull'aspetto macroscopico e sul peso della ghiandola. Dai dati esistenti in letteratura il peso medio della tiroide di feti bovini di età compresa fra 213 e 228 giorni è di 5,4 g., mentre nel caso di feti a termine è compreso fra 6,54 g. e 6,7 g. (*Campbell* e coll., 1949; *Nichols* e coll., 1949; *Hernandez* e coll., 1978).

Pertanto sono state esaminate tutte le tiroidi che presentavano un peso superiore alle suddette medie, in rapporto all'età del feto.

I derivati tiouracilici sono stati riconosciuti attraverso cromatografia su strato sottile secondo la metodica di *Gissel* e *Schaal* (1974) apportandovi alcune modifiche.

Per l'estrazione è stata impiegata la N-N dimetil formamide (DMF) anziché la prevista miscela cloroformio-alcool etilico in quanto i derivati tiouracilici sono più solubili nella prima. L'analisi è stata eseguita nel seguente modo:

2 gr. di tessuto tiroideo vengono omogeneizzati con 2 ml. di DMF ed addizionati di altri 5 ml. di DMF usati per il lavaggio dell'omogenizzatore. Si acidifica l'omogenizzato con HCl N fino a pH 4, si scalda a ricadere per 20' su bagnomaria e si filtra a caldo. Infine si porta a volume di 8 ml. Le soluzioni standard sono state ottenute sciogliendo a caldo rispettivamente 10 mg. di 2-tiouracile (TU), 6-metile 2 tiouracile (MTU) e 6 propil-2 tiouracile (PTU) in 10 ml. di DMF.

La separazione è stata effettuata su lastre Kieselgel 60 F₂₅₄ (*Merck*) impiegando come eluente una miscela di tricloroetilene-etanolo (80:20 v. v.). La quantità di soluzione standard e delle soluzioni da esaminare è pari a 5 ml. Il tempo di salita è di 35-40 min. per una altezza di 12 cm. circa.

L'identificazione delle macchie è stata effettuata mediante esposizione a lampada UV (254 nm.).

I valori di RF sono per il TU 0,45, per l'MTU 0,59 e per il PTU 0,74. E' stata anche determinata la sensibilità del metodo, la quale è inferiore a 0,5 ng.

I derivati ditiocarbamici sono stati riconosciuti e determinati secondo il metodo di *Culle* (1964) e cioè nel modo seguente:

2 gr. di tessuto tiroideo vengono posti in un pallone a 3 colli da 300 ml. munito di un refrigerante a ricadere e raccordato a due bocce *Drechsel*.

Attraverso ad un collo vengono immessi 20 ml. di acido solforico, 10N e dall'altro viene fatta giungere una corrente d'azoto (6-10 ml/m'). La seconda *Drechsel* è collegata ad una pompa aspirante in modo da risucchiare i gas che si sviluppano nel pallone posto su una piastra riscaldante munita di agitatore magnetico. Si riscalda a 150 °C per 30 m'. I gas che si sviluppano vengono convogliati nella prima *Drechsel* dove erano stati posti 15 ml. di una soluzione al 20% di acetato di Zn che serve a trattenere l'eventuale H₂S. Il CS₂ che si forma viene trasportato nella seconda *Drechsel* in cui si trovano 12,5 ml. di una soluzione contenente 0,004 gr. di acetato rameico monoi-

drato e 25 gr. di dietanolamina in 250 ml. di etanolo per uso spettrofotometrico. Questa soluzione, reagendo con il CS₂ origina un complesso di colore giallo che presenta un massimo di assorbimento a 434 nm. La lettura è stata eseguita su di uno spettrofotometro Spectronic 2000 (*Bausch e Lomb*).

Risultati

Delle 50 tiroidi esaminate, soltanto due sono risultate positive alla ricerca dei ditiocarbamati e tre a quella dei derivati tiouracilici e precisamente al PTU. Le quantità dei derivati tiocarbamici espressi in ppm di CS₂ sono i seguenti: per il primo campione 2,5362 e per il secondo 2,9784.

Tabella n. 1 Ditiocarbamati

Età feto	sexo	peso feto in Kg	peso tiroide g	Reperto istologico
a termine	♂	31,8	8,47	cellule cilindriche, 1° stadio
7½	♂	13,5	12	cellule cilindriche, 1° stadio

Tabella n. 2 Propil tiouracile

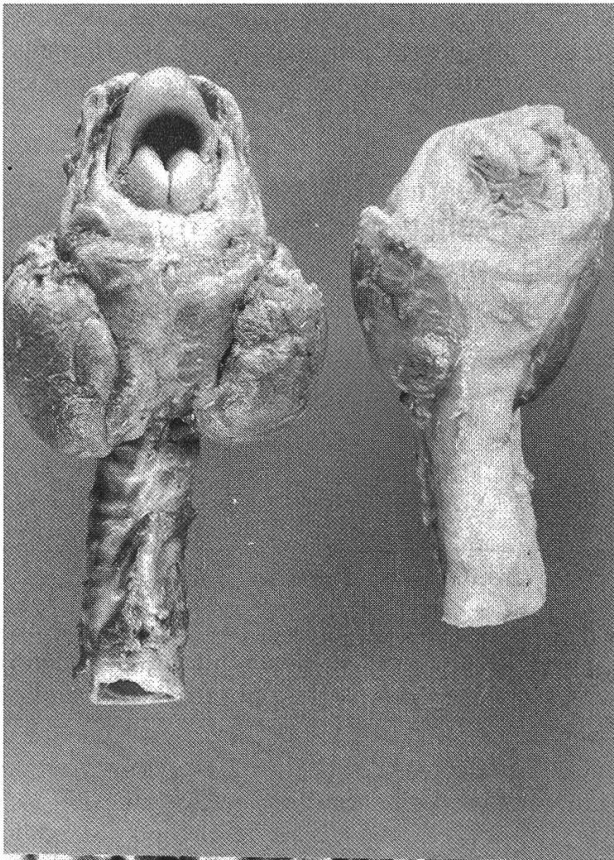
Età feto	sexo	peso feto in Kg	peso tiroide g	Reperto istologico
8 mesi	♀	12	5,6	cellule cilindriche, 1° stadio
7 mesi	♂	13	12	adenomatosi interfollicolare
a termine	♂	18	13	iperplasia, 2° stadio

Quadro anatomo-isto-patologico

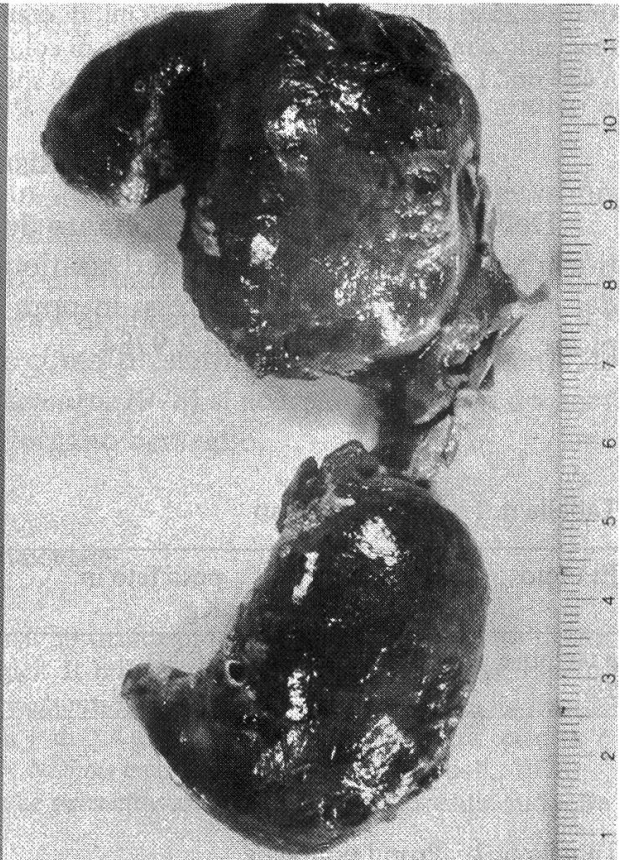
Macroscopicamente tutti i campioni positivi sia per lo *Zineb* che per il PTU erano leggermente aumentati di volume e consistenza, la superficie esterna si presentava liscia (Fig. 2).

Quadro isto-patologico

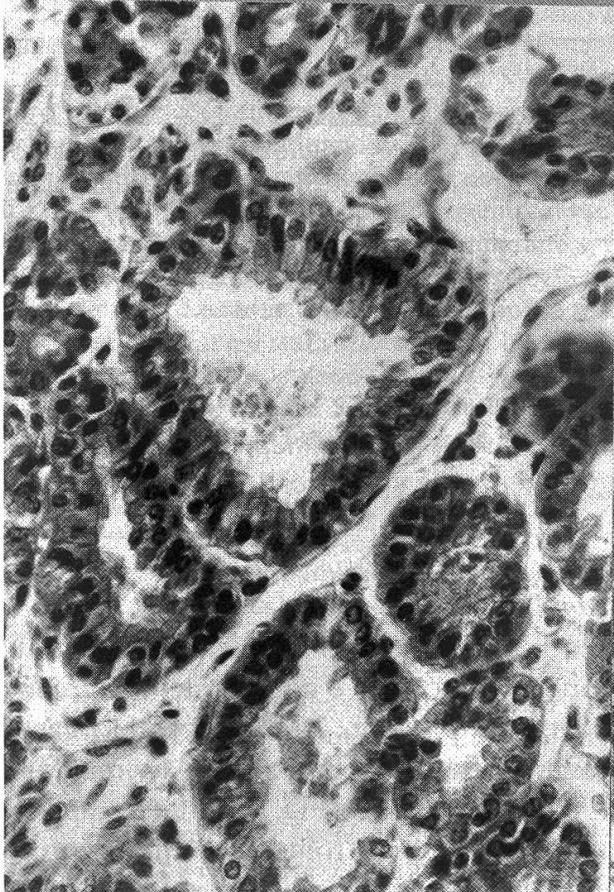
A carico delle tiroidi rivelatesi positive per il PTU si notano alterazioni strutturali piuttosto evidenti. In un caso l'altezza dell'epitelio follicolare è notevolmente aumentata, le cellule assumono aspetto cilindrico prismatico (Fig. 3). Nel secondo caso, invece, si evidenzia una proliferazione cellulare interfollicolare piuttosto marcata formante a volte dei microfollicoli, a volte dei cordoni cellulari (Fig. 4). Il terzo reperto è caratterizzato dalla presenza di proliferazioni dell'epitelio follicolare che si introflettono nel lume sotto forma di cuscinetti cellulari (Figg. 5, 6).



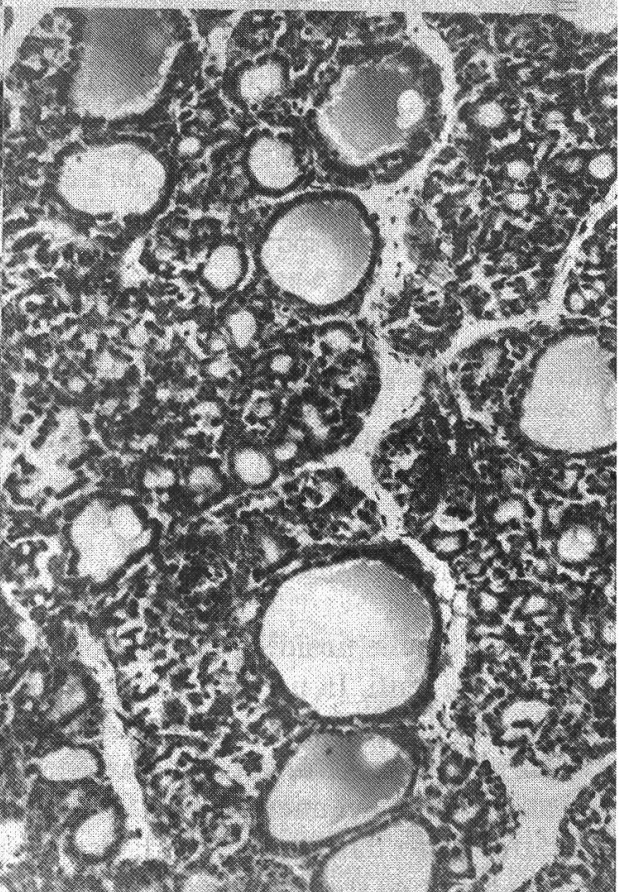
1



2



3



4

La sostanza colloide, si presenta meno intensamente eosinofila, a volte è assente, a volte è coartata e presenta vacuoli e dentellature periferiche. Analogamente nei due reperti positivi per i derivati ditiocarbamici, nei quali sono presenti evidenti fenomeni autolitici, si nota assenza di sostanza colloide e le cellule dell'epitelio follicolare sono aumentate in altezza sino ad assumere una forma cilindrica (Fig. 8). In alcune zone è riconoscibile una struttura microfollicolare (Fig. 7).

Considerazioni e conclusioni

Per quanto riguarda la ricerca dei derivati tiouracilici, lo scarso numero di campioni positivi non esclude che altre tiroidi possano provenire da animali trattati con questi composti. Infatti i derivati tiouracilici sono facilmente degradabili. *Böhnel* (1966) rinvenne da 12 a 56 ppm di MTU in campioni di tiroidi 24 ore dopo il prelievo delle stesse, mentre 60 ore dopo tale quantità si era ridotta a 2-2,5 ppm. Inoltre i derivati tiouracilici vengono rapidamente metabolizzati, e si calcola che a distanza di 24 ore dalla somministrazione circa il 95% di essi sia eliminata (*Gissel e Schaal, 1974*).

Infine alimentando pecore gravide con MTU è stato dimostrato che soltanto le dosi più alte sono in grado di attraversare il filtro placentare (*Lascelles e Setchell, 1959*).

Le stesse considerazioni sono applicabili anche ai derivati tiocarbamici i quali sono facilmente metabolizzati in composti tireostatici alcuni dei quali come l'ETU mantengono le proprietà ma non possono essere più identificati col metodo precedentemente descritto (*Goodman e Gilman, 1980*).

Per quanto riguarda il quadro isto-patologico, abbiamo fatto riferimento alla classificazione di *Griem* (1973). Secondo questo autore le alterazioni indotte da somministrazione sperimentale di metiltiouracile nei vitelli si possono classificare in quattro stadi:

1. cellule follicolari cilindriche, colloide contenente numerosi vacuoli periferici;
2. iperplasia più accentuata con formazione di cuscinetti che protendono nel lume;
3. cellule disposte su uno o più piani ed i follicoli acquistano un aspetto polimorfo;
4. i follicoli sono invasi da proliferazioni epiteliali ed il tessuto assume un aspetto compatto.

Per quanto riguarda i nostri reperti, il primo caso (Fig. 3) ed i reperti positivi per i ditiocarbamati (Figg. 7, 8) sono riconducibili al primo stadio della suddetta classifi-

Fig. 1 Tiroidi di feti abortiti al 7° mese. A destra reperto normale, a sinistra tiroide iperplastica positiva al PTU.

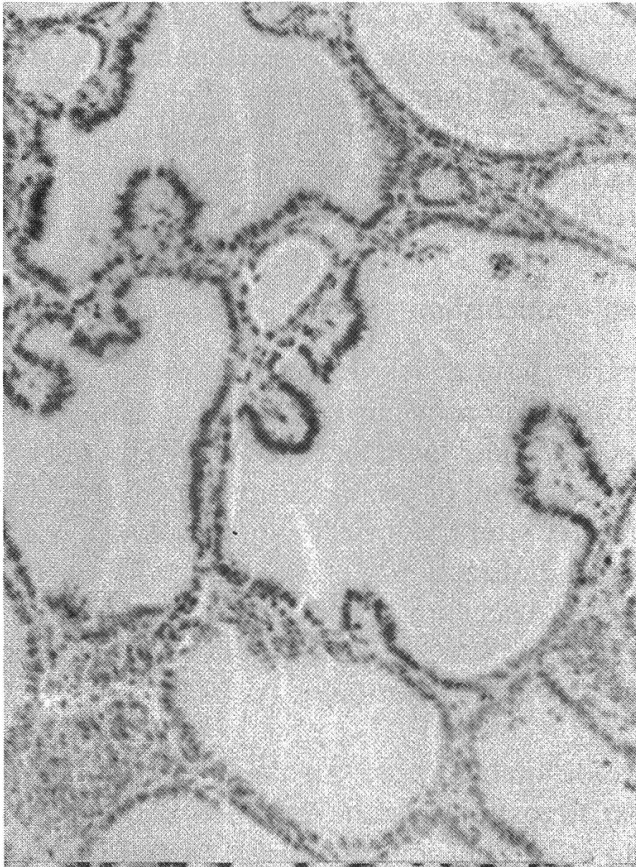
Fig. 2 Tiroide di feto abortito a termine. La ghiandola, aumentata di volume, presenta superficie liscia ed è positiva al PTU.

Fig. 3 Feto abortito ad 8 mesi. Iperplasia dell'epitelio follicolare cilindrico; i nuclei si presentano disposti in più file.

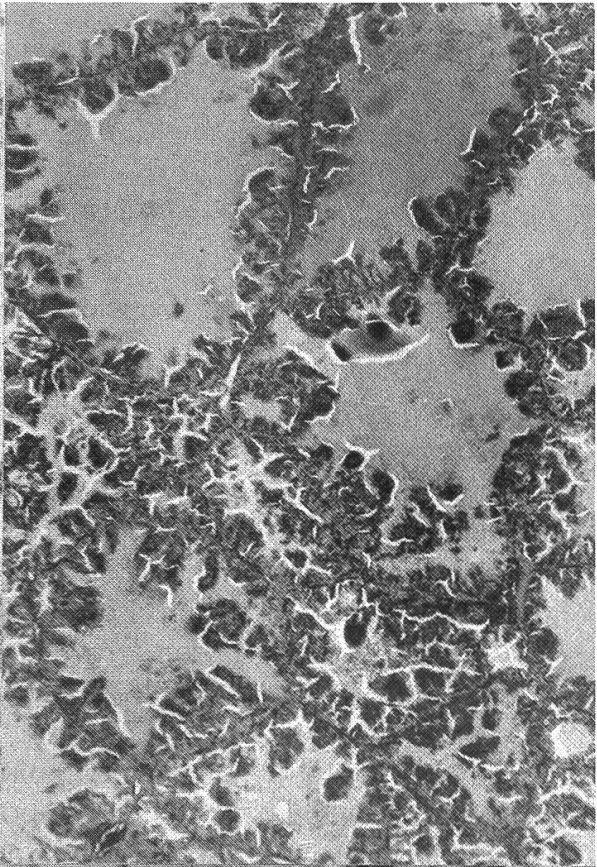
(E. E., forte ingrand.)

Fig. 4 Feto abortito a 7 mesi. Adenomatosi interfollicolare.

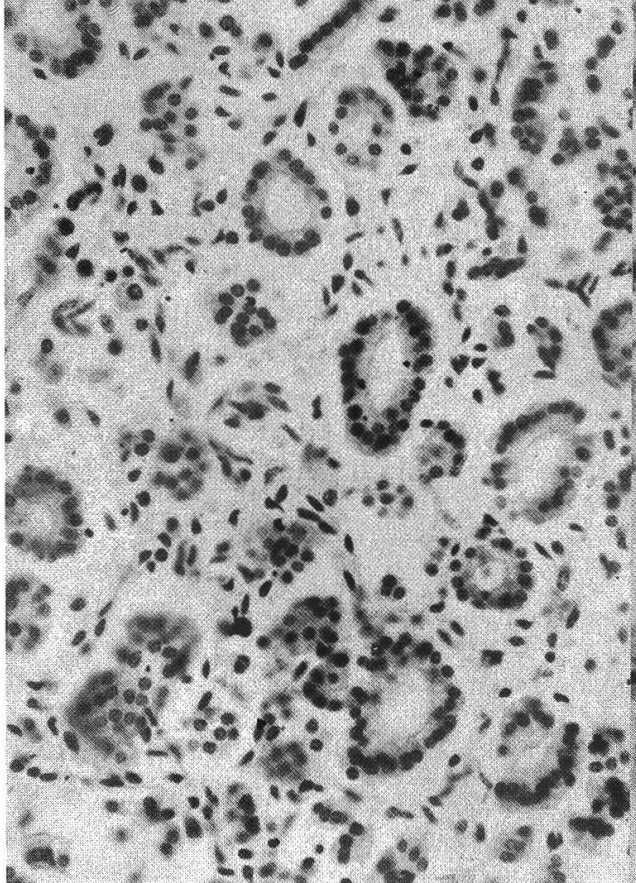
(E. E., piccolo ingrand.)



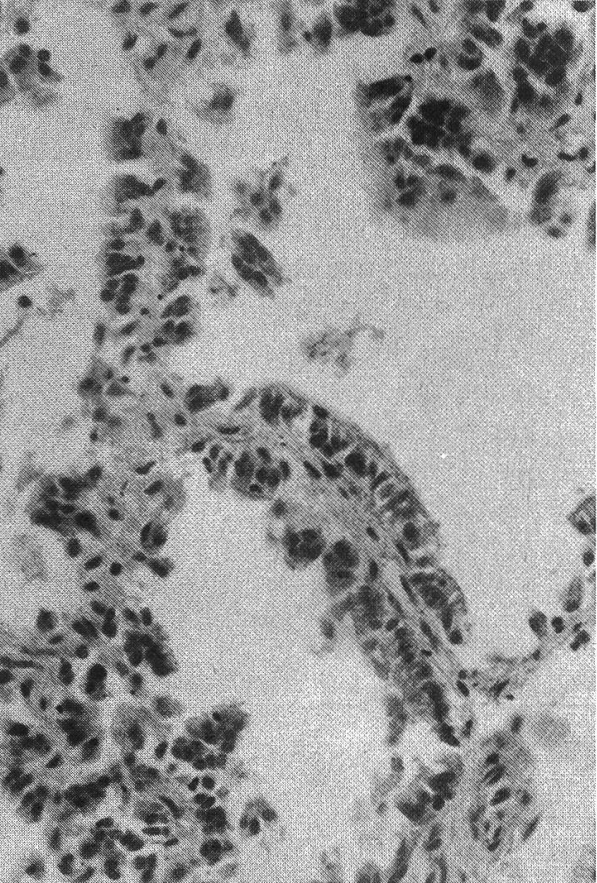
5



6



7



8

cazione, mentre il terzo caso (Figg. 5, 6) è assimilabile al secondo stadio di *Griem*. Il secondo caso (Fig. 4) è invece riportabile al quadro dell'adenomatosi interfollicolare secondo *Nyberg et al.* (1968).

La scarsa gravità delle lesioni da noi riscontrate potrebbe essere giustificata considerando la verosimilmente ridotta quantità di PTU pervenuta alla tiroide fetale. Inoltre, secondo *Pottie* (1980), su 112 tiroidi di bovini adulti rivelatesi positive alla ricerca chimica dei derivati tiouracilici, soltanto il 2% presentava alterazioni istologiche riconducibili al IV° stadio secondo *Griem*.

Conclusioni

I risultati della ricerca chimica convaliderebbero l'ipotesi secondo la quale sostanze tireostatiche possono costituire cause dirette od indirette nella genesi degli aborti bovini. Il rinvenimento di derivati tiouracilici i quali solitamente vengono impiegati piuttosto nei vitelloni che non nelle vacche, costituisce un indice dell'abuso di tali sostanze nell'alimentazione bovina. Per quanto riguarda i tiocarbamati, la loro presenza a livello fetale denota l'uso indiscriminato di questi fungicidi in agricoltura e prospetta il pericolo di una eventuale tossicità di ritorno nei riguardi dell'uomo.

Riassunto

Sono state eseguite ricerche chimiche su 50 tiroidi di feti bovini abortiti prelevate da un totale di 80 precedentemente sottoposte ad esame anatomoistopatologico.

Le sostanze ricercate sono derivati tiouracilici e dell'acido ditiocarbamico.

Sono risultate positive 5 tiroidi le quali presentano alterazioni istologiche riferibili verosimilmente ai primi stadi dell'iperplasia parenchimatosa.

Zusammenfassung

Aus einem Gesamtmaterial von 80 Schilddrüsen von abortierten Rinderfoeten, die histologisch untersucht worden waren, wurden an 50 chemische Untersuchungen durchgeführt.

Es wurde versucht, Thiourazil und Thiokarbaminsäure nachzuweisen. Positive Ergebnisse resultierten nur bei 5 Schilddrüsen, die auch die histologischen Anzeichen der ersten Stadien parenchymatöser Hyperplasie aufwiesen.

Fig. 5 Feto a termine. Proliferazione dell'epitelio follicolare formante cuscinetti che protendono nel lume.

(E. E., medio ingrand.)

Fig. 6 Notevole iperplasia dell'epitelio alveolare con numerose proliferazioni cellulari a mo' di cuscinetti o di villi protendenti nel lume.

(E. E., medio ingrand.)

Figg. 7-8 Tiroidi positive al ditiocarbamato, nonostante i fenomeni autolitici presenti nel tessuto sono ancora riconoscibili le strutture epiteliali alveolari con morfologia a forma cilindrica, talvolta a più strati.

(E. E., piccolo e forte ingrand.)

Résumé

Un total de 80 glandes thyroïdes provenant de fétus bovins avortés, a été soumis à l'examen histologique. Sur 50 glandes sélectionnées, une recherche chimique en vue de la présence de thiouracile et de l'acide di-thiocarbamique, a été effectuée.

Dans 5 glandes seulement, un résultat positif a été obtenu. Ces glandes présentaient histologiquement les premiers stades de l'hyperplasie parenchymateuse.

Summary

A total of 80 thyroids from aborted bovine fetuses has been examined histologically. Fifty selected glands served for a chemical search for thiouracyle and di-thiocarbaminic acid. It was found in 5 glands only. Histologically, those glands showed the initial stages of parenchymatous hyperplasia.

Bibliografia

Böhnel H. T.: Untersuchungen zum Rückstandproblem nach Anwendung von MTU in der Jungbullenmast. Vet. Med. Diss., München (1966). – *Brüggemann J., Barth K., Karg H.*: Generationsversuche an Ratten zur Frage eventueller mittelbarer toxischer Wirkungen von Methilthiourazil nach Anwendung bei Masttieren. Mh. f. Tierheilk., 14, 203 (1962). – *Campbell I. L., Hollard M. G., Flux D. S.*: N. Z. J. Sci. Tech. 31 29 (1949) cit. da *Allcroft R., Scarnell J., Hignett S. L.* – A preliminary report on hypothyroidism in cattle and its possible relationship with reproductive disorders. Vet. Rec., 66, 367 (1954). – *Cullen T. E.*: Spectrophotometric determination of dithiocarbamate residues on food crops. Anal. Chem., 36, 221 (1964). – *Engst R., Schnaak W.*: Residues of dithiocarbamate fungicides and their metabolites on plant foods. Res. Rew., 52, 45 (1974). – *Gennaro Soffietti M.*: Determinazione dei residui nei muscoli e negli organi di polli nell'intossicazione da etilen-bis-ditiocarbamato di Zinco. Annali Fac. Med. Vet. Torino, 25, 206 (1978). – *Gissel C., Schaal M.*: Eine dünnschichtchromatografische Untersuchung zum Nachweis von Thiouracilderivaten in der Schilddrüse schlachtbarer Haustiere. Arch. für Lebensmittelhyg., 24, 8 (1974). – *Goodman L. S., Gilman A.*: The pharmacological basis of therapeutics. Sixth edition. MacMillan Publishing Co., New York, 1980. – *Guarda F., Biolatti B., Nebbia C., Gennaro Soffietti M.*: Anatomia patologica delle tiroidi di feti bovini abortiti provenienti da zone ad allevamento intensivo. (In corso di stampa). – *Griem W.*: Pathologisch-histologische Veränderungen von Schilddrüsen bei Rindern und Kaninchen nach Verfütterung von Methylthiouracil. Berl. Münch. Tierärztl. Wschrft., 86, 50 (1973). – *Hernandez M. V., Kevin M. Etta, Reineke E. P., Oxender W. D., Hafs H. D.*: Thyroid function in the prenatal and neonatal bovine. J. Anim. Sci., 34, 780 (1978). – *Lascelles A. K., Setchell B. P.*: Hypothyroidism in the sheep. Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci., 12, 455 (1959). – *Nichols C. W., Chaikoff I. L., Wolff J.*: Endocrinologie 44, 502 cit. da *Allcroft R., Scarnell J., Hignett S. L.*: A preliminary report on hypothyroidism in cattle and its possible relationship with reproductive disorders. Vet. Rec., 66, 367 (1954). *Nyberg J. A., Nilsson P. O., Crabo B., Ekman L.*: Chemical and morphological studies of thyroid function in lactating cattle. Acta Vet. Scand., 9, 151 (1968). – *Pottie G.*: Verwendbarkeit der histologischen Schilddrüsenuntersuchung bei erwachsenen Rindern zur Ermittlung des Missbrauches von Thyreostatica. Fleischwirtsch., 59, 248 (1979). – *Terplan G. D., Kotter L., Biruta Rolle, Geist H.*: Zur Verwendung des Thyreostatikums MTU in der Rindermast. Fleischwirtsch., 44, 457 (1964). – *Tiecco G., Valfre' F.*: Aspetti igienico-sanitari sulle contaminazioni chimiche delle derrate di origine animale. Atti Soc. It. Sci. Veter., 24, 148 (1970). – *Wilson J. G.*: Hypothyroidism in ruminants with special reference to fetal goitre. Vet. Rec., 97, 161 (1975).

Registrazione del manoscritto: 31/7/1981