

Afdeling IVVO/RIKILT

1987-01-30

RAPPORT 87.06

Pr.nr. 505.0670

Literatuuronderzoek thyreostatica

Verzendlijst: directeur, sektorhoofden, bibliotheek (1x), afdeling Toxicologie, afdeling BFA, projectleider, projektbeheer, circulatie, directie DLO, directie VKA, directie IVVO, directie RVV, directie VD, VHI, directie RIVM, dr J.G. Vos RIVM, dr R.W. Stephany/drs L.A. v. Ginkel RIVM

Project: Ontwikkeling methoden voor de aantoning van het gebruik van thyreostatica bij mestvee.

Onderwerp: Literatuuronderzoek thyreostatica

Doel:

Vaststellen van de mogelijkheden voor een controle op het gebied van thyreostatica bij mestvee.

Samenvatting:

In deze literatuurstudie wordt ingegaan op de effecten van schildklierremmende verbindingen op de fysiologie van het dier. Hierbij wordt nadruk gelegd op de mogelijkheden voor controle op het illegale gebruik van deze stoffen aan de hand van schildklierhormoonconcentraties in het bloed en het gewicht van de schildklier. Daarnaast blijft het analytisch-chemisch onderzoek van belang.

Conclusie:

Op grond van de literatuurstudie blijkt dat controle in de slachtfase zeer waarschijnlijk kan worden gebaseerd op het schildkliergewicht. Overschrijdt dit gewicht een vooraf vastgestelde grens dan kan analytisch-chemisch onderzoek op het schildklierweefsel worden uitgevoerd. Door accumulatie zijn de concentraties in de schildklier relatief hoog. Eveneens is analytisch-chemisch onderzoek van urinemonsters mogelijk. Voor de bedrijfsfase is de urinematrix de eerste keus.

Verantwoordelijk: ir P.L.M. Berende

Samensteller : ir P.L.M. Berende

Projectleider : ir P.L.M. Berende

Thyreostatica bij landbouwhuisdieren

door

P.L.M. Berende

Naast de in de literatuurstudie genoemde produkten worden de volgende produkten nog genoemd als mogelijke groeibevorderaars: thioureum, mercaptoimidazol, thiouracil, thiohydantoïne, propylthiouracil, phenylthiouracil (PTU). Daarnaast hebben stoffen zoals sulfonamides en resorcine een schildklierremmende werking (Kuckro, 1977 en Gissel et al., 1974). Verder worden nog genoemd rhodaniden (CNS^-), perchloraat (ClO_4^-), jodaat (JO_3^-) en nitraat (NO_3^-) als stoffen die het transport van jodium naar de schildklier verhinderen.

Voor wat het effect van thyreostatica betreft moet nog gewezen worden op vrij recent onderzoek in Oostenrijk en Duitsland (Herbrüggen et al., 1983). Zij kwamen tot de conclusie dat thyreostatica een grotere vulling van het maagdarmkanaal teweegbracht en ook een hoger vochtgehalte in het spierweefsel, maar er was toch nog een positief netto effect bij stieren en mestkalveren.

Over het werkingsmechanisme van de (illegaal) in de praktijk gebruikte thyreostatica valt te melden dat zij de omzetting van jodide tot elementair jodium verhinderen. Het gevolg hiervan is dat het mono- en dijoodthyronine niet omgezet worden in het werkzame en transporteerbare tri- en tetrajoodthyronine (thyroxine) (Kuckro, 1977).

Thyreostatica zijn oraal werkzaam en worden snel in het bloed opgenomen. Ze worden echter ook snel omgezet en uitgescheiden. Uit de literatuurstudie van Kuckro (1977) kwam naar voren dat binnen 24 uur na een orale gift van MTU ca. 95% omgezet of uitgescheiden was. Van de hoeveelheid die in het lichaam achterblijft bevindt zich de grootste hoeveelheid in de schildklier. Henning (1986) vermeldt dat 24 uur na het stoppen van de medicatie 12-56 ppm MTU zich in de schildklier bevindt en na 60 uur 2-2½ ppm. Bij een onthoudingstermijn van 60 uur konden, afgezien van in de schildklier, alleen residuen in vet en lever gevonden worden en niet meer in andere organen en weefsels (Kuckro, 1977).

In de volgende hoofdstukken zullen verschillende mogelijkheden worden besproken om het klandestiene gebruik van thyreostatica vast te stellen. Deze bepalingmethoden zouden aan de volgende eisen moeten voldoen (Pohlschmidt en Forschner, 1979):

- 1) specifiek thyreostatische stoffen aantonen
- 2) zowel bij het levende als ook bij het geslachte dier bruikbaar zijn
- 3) ook te gebruiken bij onderzoek van karkassen (bijv. onderzoek in spierweefsel bij import van vlees)
- 4) onderste detectiegrens moet lager liggen dan de gehalten waarbij nog farmacologische werking optreedt
- 5) snel uit te voeren zijn en niet te duur.

Gissel et al. (1974) stelden dat de stof alleen maar kwalitatief aangetoond

behoeft te worden omdat het gebruik ervan verboden is.

Bepaling van thyreostatica

Op het slachthuis is het praktisch alleen zinvol om het schildklierweefsel op residuen van thyreostatica te onderzoeken. In spier e.d. zijn de gehalten enkele dagen na ophouden van de thyreostatica verstreking te laag, terwijl in urine iets langer thyreostatica aangetoond kan worden dan in de eetbare weefsels. Alleen tijdens de verstreking van thyreostatica is het zinvol om voer en urine hierop te onderzoeken (bedrijfscontrole).

Eén van de mogelijkheden om thyreostatica aan te tonen is met behulp van dunne laag chromatografie. Na voorbehandeling van het monster van de schildklier, eventueel van de lever, nier of spier, wordt een extract hiervan op de plaat gebracht, waarop vervolgens een fluoriserende stof wordt gebracht en kan dan met een spectrofotometer kwantitatief bepaald worden. Volgens Kuckro (1977) ligt de detectiegrens in vers weefsel bij 4 ppm. Deze waarde ligt in dezelfde orde van grootte als Pohlschmidt en Forschner (1979) vermelden, nl. 0,05 - 1 g MTU absoluut (zij namen 1 ml bloed en 1½ g spier als uitgangsmateriaal). Met een meer geavanceerde techniek kwamen Laitem en Gaspar (1977) tot 10 ppb. Maar zij baseerden hun cijfer op het terugvinden van toegevoegde thyreostatica in weefsels.

Een meer geavanceerde techniek is gebruik maken van HPLC en HPTLC. Pochard et al. (1984) vermeldden een onderste detectiegrens van 0,2 ppm in het bloed. Hennig (1986) noemt als onderste detectiegrens 0,02 ppm voor de thiouracil's en 0,06 ppm voor carbimazol. Deze grens met TLC en HPTLC varieert sterk, nl. tussen 1 ppm en 1 ppb, zoals uit het literatuuronderzoek van Herbrüggen et al. (1983) naar voren komt.

CONCLUSIE: Bij een goed uitgevoerde analyse met behulp van HPTLC lijkt een onderste detectiegrens voor thyreostatica van 1 - 10 ppb haalbaar. Op het slachthuis is de schildklier het aangewezen orgaan om onderzocht te worden omdat de gehalten daarin het hoogst zijn. Tijdens de mestperiode (bedrijfscontrole) komen voer en urine in aanmerking om onderzocht te worden.

Bepaling van de werking van de schildklier

De toediening van thyreostatische stoffen kan indirect gecontroleerd worden door de werking van de schildklier na te gaan. Dit kan gedaan worden door één of meer van de volgende stoffen (in het bloed) te bepalen: thyreotroop hormoon (TSH), trijoodthyronine (T_3), tetrajoodthyronine (thyroxine of T_4) en het joodgehalte ("protein bound iodine"). Ook de onderlinge verhouding van genoemde hormonen kan een goed beeld van de werking van de schildklier geven. Een nog betere maat zou volgens Sorensen et al. (1981) de T_4 degradatiesnelheid zijn (in $\mu\text{mol}/\text{dag}$). Maar deze is niet zo gemakkelijk te bepalen en wordt daarom ook niet zo veel gebruikt. TSH, T_3 en T_4 kunnen nauwkeurig en gemakkelijk met behulp van een RIA bepaald worden en I_2 via een kolorimetrische methode. Voor de RIA-bepalingen zijn commerciële kits beschikbaar (Miller en Alby, 1985). Met deze bepalingen kunnen afwijkingen van het normale patroon aangetoond worden. Thyreostatica verlagen duidelijk de gehalten van T_3 en vooral T_4 in het bloed (May en McNaughton, 1980). Na ophouden van de verstrekking herstelt de werking van de schildklier zich snel. Zo vonden Akiba et al. (1971) dat de werking van de schildklier, gemeten via de I_2 -opname door de schildklier, 3 dagen na ophouden van de PTU verstrekking weer normaal was.

Hier worden summier enige factoren genoemd die de werking van de schildklier beïnvloeden:

- 1) Toediening van thyreostatica. Ca. één week na toediening van MTU aan stieren was het T_4 -gehalte in het bloed beneden haar normaalwaarde gedaald en 4-5 dagen na ophouding van de MTU verstrekking was deze weer normaal (Pohlschmidt en Forschner, 1979a en b).
- 2) Verstrekken van voer (planten) met van nature voorkomende thyreostatische stoffen. Zo bleek 8% raapzaad in het voer het T_4 -gehalte in het bloed van varkens tot beneden de detectiegrens te doen dalen en het T_3 -gehalte met 2/3 (Jahreis et al., 1985). Ook het verstrekken van voer met onvoldoende jodium geeft afwijkende schildklierwerking te zien (Korber et al., 1983 en 1984). Ook hoge doseringen nitraat in het drinkwater of voer (3% KNO_3 in het rantsoen) hebben een nadelige invloed op de schildklier (Jahreis, 1986).
- 3) Energie(voer)opname. Macari et al. (1983) lieten zien dat hogere energieopnames bij varkens resulteerden in hogere T_4 en T_3 -spiegels in het bloed. In een later onderzoek van Griggio en Ingram (1985) bleek dat er een verhoging in T_4 en T_3 -gehalten optrad maar deze verschillen waren niet significant. Voor koeien werd eveneens een verhoging van genoemde hormonen aangetoond na vergroting van de energievoorziening (Pethes et al., 1984; Blum et al., 1985).

In het onderzoek van Pethes et al. (1984) met koeien rond de partus waren de verschillen niet zo duidelijk. Uit de literatuurstudie van Gringnet et al. (1985) blijkt dat de effecten van extra voerverstrekking op het T_4 -gehalte niet eenvoudig waren.

- 4) Tijdstip van voeren. Veel proeven zijn genomen om de invloed van voerverstrekking na een periode van vasten op T_4 en T_3 -gehalten te bestuderen. Bij stieren gaf 48 uur vasten een verlaging van het T_4 -gehalte van 30% (Almlid et al., 1982). Ook Tveit en Larsen (1982) vermeldden een drastische verlaging van T_4 en T_3 -gehalten in het bloed bij stieren na vasten. Twaalf uur na het voeren bereikten beide gehalten hun (maximale) waarden weer. Bij ratten is dit door Schalch en Cree (1985) ook aangetoond. Ook Dauncey et al. (1983) lieten het effect van het voeren duidelijk zien. Deze verandering na het voeren na een periode van vasten blijkt weer van de hoeveelheid voer af te hangen, zoals ook uit het onderzoek met paarden van Gade en Reimers (1985) naar voren kwam. In afwijking van koeien, varkens, paarden en ratten, reageren kuikens anders op vasten. Zo blijkt het T_4 -gehalte onder invloed van vasten toe te nemen en T_3 af te nemen (Decuypere en Kühn, 1984).
- 5) Tijdstip van de dag. Het T_4 en T_3 -gehalte schommelt sterk binnen 24 uur (Curtis en Abrams, 1977). Naast het tijdstip van de voeding spelen ook andere factoren een rol zoals bijvoorbeeld licht zoals uit experimenten van Decuypere en Kühn (1984) en Tveit en Larsen (1983) blijkt.
- 6) Lactatiestadium. Het T_4 en T_3 -gehalte schommelt tijdens de lactatieperiode, maar de mate waarin hangt van het produktieniveau van de dieren af (Hart et al., 1978). Bij de droogstaande laag producerende groep was het T_4 -gehalte het hoogst. Bij het onderzoek van Riis en Madsen (1985) met geiten is het T_4 -gehalte de eerste 4-5 weken na het werpen het laagst, zowel bij een hoog als een laag energierijk voer. Kesler et al. (1981) laten zien dat het T_4 -gehalte binnen één week na het afkalven sterk daalt.
- 7) Leeftijd. Het effect van de leeftijd bij kalveren wordt in de publikatie van Roy et al. (1983) vermeld. Maar de voeding speelt in deze een grote rol, of zoals Grongnet et al. (1985) het formuleerden dat bepaalde voedselcomponenten de werking van de schildklier bij pasgeboren kalveren kunnen stimuleren. Wel kunnen de eerste dagen na de geboorte zeer hoge T_4 en T_3 -gehalten in het bloed aangetoond worden (Jovanovic et al., 1982; Kahl et al., 1977; Davicco et al., 1982).

- 8) Tijdstip van het jaar. Uit het onderzoek van Wallace (1979) met schapen bleek dat de hoogste T_4 en T_3 -waarden in het voorjaar gevonden werden en de laagste waarden in het najaar.
- 9) Klimaat. Warmte heeft invloed op de werking van de schildklier en dan niet alleen via de veranderde voeropname. Bij melkgevende koeien in de hitte vonden Collier et al. (1982) lagere T_4 en hogere T_3 -gehalten dan bij dieren die in de schaduw konden staan. Macari et al. (1983) konden echter geen verschil in T_4 en T_3 -gehalten vinden tussen varkens die bij 10°C en die bij 35°C gehouden werden.
- 10) Ras. Davicco et al. (1982) suggereerden dit als mogelijke oorzaak voor verschil in schildklierhormoongehalten. De verschillen bij jonge kalveren van verschillende rassen was bij hen niet groot. Voor oudere runderen waren de verschillen tussen "dikbil" en "normale" dieren wel groot. Bij dikbillen was het T_3 -gehalte hoger, ook het T_4 -gehalte was hoger, maar het verschil met gewone dieren was hier echter niet significant. Bij "obese" varkens vonden Yen en Pond (1985) lagere T_3 -gehalten dan bij normale dieren, maar de T_4 -gehalten waren hier niet verschillend.
- 11) Toediening van schildklierstimulerende stoffen. Thyrotropine-releasing hormoon verhoogt de gehalten aan T_4 en T_3 , dit is o.a. aangetoond door Leung et al. (1984) bij haantjes. Ook de toediening van "thyroproteïne" (joodcaseïne, "iodinated protein") heeft een schildklierstimulerende werking (Winchester, 1953; Peo en Hudman, 1960; Thomas, 1966). Ook de anabole stof Synovex-S (oestradiol/progesteron) zou het T_4 -gehalte verhogen en het T_3 -gehalte iets verlagen (Kahl et al., 1985).
- 12) Ziekten. Bepaalde ziekten hebben een remmende werking op de schildklier, maar er zouden ook ziekten zijn die de schildklier extra prikkelen tot T_4 en T_3 -afgifte.

CONCLUSIE: Er zijn zoveel factoren die invloed hebben op de werking van de schildklier dat het moeilijk wordt om lagere T_4 en T_3 -gehalten in het bloed zonder meer toe te schrijven aan het gebruik van thyreostatica. T_4 (en T_3)gehalten kunnen onder meer verlaagd zijn door het voeren van "goitrogens" (koolsoorten), jodiumtekort, behandeling van zieke dieren met sulfonamides en het laten vasten van de dieren.

Gewicht schildklier

Thyreostatica veroorzaken een duidelijke toename van de schildklier in grootte en gewicht. Sinha et al. (1967) voerden tapazole aan volwassen hanen en het bleek dat niet alleen het aantal cellen in de schildklier was toegenomen, maar ook de cellen zelf waren groter geworden. Er zijn veel auteurs die wijzen op de gewichtstoename van de schildklier onder invloed van thyreostatica.

Volwassen hanen die 0,5 mg/100g l.g. tapazole via het voer kregen toegediend gedurende 30, 60 en 90 dagen, lieten een gewichtstoename van de schildklier zien van resp. 66,8, 187,9 en 136,5% ten opzichte van de onbehandelde controle (134,8 mg) (Sinha et al., 1967). Een toename in dezelfde orde van grootte zagen Combest et al. (1980) bij volwassen hennen die 0,1% PTU in het voer kregen, namelijk 135% gewichtsvermeerdering na 7 dagen, 160% na 14 dagen en drie weken (absoluut gewicht?). Bij kuikens die vanaf het uitbroeden gedurende 14 dagen 0,1% thiouracil in het voer kregen nam het gewicht bij de haantjes toe met 289% en bij de hennetjes met 374% ten opzichte van de onbehandelde controle (gewicht 27,44 resp. 23,47 mg). Akiba et al. (1971) voerden kuikens van dezelfde leeftijd 3 weken lang voer met 0,01 en 0,05% PTU. De schildkliergewichten van de behandelde dieren waren 200 en bijna 700% hoger dan die van de controledieren (absoluut gewicht?). Het was opmerkelijk dat het gewicht van de schildklier bij de 0,01% groep 7 dagen na stoppen van de toediening van PTU bijna gelijk was aan die van de controlegroep en na 14 dagen waren de gewichten gelijk. Bij de 0,05% groep was het gewicht na 14 dagen nog 200% hoger dan dat van de controlegroep.

Jahreis et al. (1985) voerden aan biggen vanaf een gewicht van 20 kg gedurende 97 dagen een rantsoen met 8% raapzaad. Dit gaf een verhoging van het schildkliergewicht met bijna 700% (gewicht controle 13,7 g als in tabel 2 g mg zijn). Door de toevoeging van jodium aan dit rantsoen nam het gewicht van de schildklier minder toe, ging men bovendien nog koper (250 ppm) toevoegen dan bleef het gewicht gelijk aan dat van de controlegroep zonder raapzaad. Nog duidelijker kwam het effect van jodium naar voren in de proeven van Sihombing et al. (1974). Na het verstrekken van tapazole en thiocynaat gedurende 3 weken werd gedurende de daaropvolgende 3 weken wel en geen jodium aan het voer toegevoegd. In de jodiumgroepen (verschillende hoeveelheden) was het gewicht van de schildklier ca. 20 tot ca. 55% lager dan dat van de andere groepen (er was geen controlegroep zonder een thyreostaticum).

Vos et al. (1982) onderzochten een beperkt aantal (45) schildklieren, welke verzameld werden op enkele slachthuizen. De schildklieren waarin thyreostatica

aangetoond werden (positieve groep) waren gemiddeld 3 keer zo zwaar dan die waarin geen residuen (negatieve groep) aangetoond konden worden. De verschillen in gewicht waren niet zo duidelijk omdat de gewichten van enkele schildklieren in de negatieve groep gelijk waren aan de lichtste van de positieve groep. Wel kwamen Vos en zijn mede-auteurs tot de conclusie dat boven de gewichtslimiet van 60 gram er 4 van de 22 als vals positief aan te merken waren (maar deze 4 waren niet op alle thyreostatica onderzocht) en geen vals negatieve. Pochard (1983) bepaalde de gewichten van schildklieren van 171 mestkalveren, 75 stieren en 175 afgemolken koeien. De gemiddelde gewichten, berekend na het weglaten van de schildklieren die zwaarder dan 60 gram wogen, waren respectievelijk 15,9, 25 en 24 gram. Hij berekende ook de correlatie tussen het karkasgewicht en het gewicht van de schildklier. Deze correlatie was niet duidelijk aanwezig, zeker niet voor stieren en nog minder voor koeien. De schildklieren die zwaarder dan 60 gram wogen werden met behulp van HPTLC op residuen van thyreostatica onderzocht. Het bleek dat 67% van deze schildklieren MTU restanten (van enkele ppb tot 50 ppm toe) bevatten. Het spierweefsel bevatte in 36% van de gevallen MTU residuen (van enkele ppb tot 1 ppm).

CONCLUSIE: De schildklier neemt duidelijk in grootte en gewicht toe bij het gebruik van thyreostatica. Maar deze gewichtstoename kan ook veroorzaakt worden door thyreostatische stoffen die niet opzettelijk aan het voer zijn toegevoegd zoals raapzaadschroot. Ook bepaalde ziekten kunnen deze gewichtstoename veroorzaken, alsmede een tekort aan jodium (vals positieve). Het gewicht van de schildklier kan weer haar normale waarde bereiken door enkele weken voor het slachten op te houden met de thyreostatica verstrekking. Dit effect kan nog versterkt worden door extra jodium aan de dieren te verstrekken (vals negatief).

Histologie van de schildklier

Bij het gebruik van thyreostatica treden er histologische veranderingen van de schildklier op. Combest et al. (1980) spreken over cellulaire hypertrofie, verminderde hoeveelheid colloid in de follikels en hyperplasie. Volgens Kuckro (1977) moeten we bij het histologisch onderzoek op het volgende letten:

- follikellumen (groot, klein, geen lumen)
- epitheelhoogte (vlak, kubisch, cilindrisch)
- proliferatie van het epitheel (1-rijig, 1-2 rijig, 3-4 rijig, kussenvormig)

- kernen (grootte, kleurbaarheid, plaats)
- colloid (hoeveelheid, kleurbaarheid).

Volgens Griem (1973) is proliferatie van het epitheel de meest kenmerkende verandering en de mate waarin deze verandering plaatsvindt kan min of meer kwantitatief vastgelegd worden door bepaalde klassen te vormen. Maar om de veranderingen in het histologisch beeld vast te stellen en goed te interpreteren is moeilijk, omdat:

- a) bij het niet snel fixeren na het slachten er autolytische processen optreden. Ook bij mechanische beschadigingen (druk enz.) kunnen veranderingen optreden zodat het moeilijk wordt de preparaten goed te beoordelen (Griem, 1975). Ook Kuckro (1977) merkte op dat het moeilijk is goede preparaten te maken en ook de beoordeling schijnt moeilijk te zijn (veel artefacten).
- b) deze histologische veranderingen niet specifiek zijn voor thyreostatica, maar ook door bepaalde voederbestanddelen en bepaalde ziekten ontstaan kunnen zijn (vals positief).
- c) in schildklieren waarin thyreostatica aanwezig waren slechts in een klein aantal gevallen duidelijk histologische veranderingen optraden (vals negatief), zoals ook door Vos, na het bestuderen van de literatuur, opgemerkt wordt.
- d) na ophouden van de thyreostatica verstrekking krijgt het histologische beeld snel weer het normale aanzien zoals door Winter en Massey (1981) bij schapen aangetoond is. Zeven dagen na ophouden van de MTU verstrekking was het histologische beeld bijna weer normaal en na 14 dagen waren de behandelde dieren niet meer van hun controles te onderscheiden.

CONCLUSIE: Het histologisch onderzoek van de schildklier is niet zo geschikt om het klandestiene gebruik van thyreostatica aan te tonen.

Enzymsystemen in de schildklier

T_3 ontstaat uit T_4 en deze omzetting vindt voor het grootste deel buiten de schildklier plaats. Bij deze omzetting speelt het enzym thyroxine-5-monodeiodinase een grote rol en thyreostatica zouden de werking van dit enzym remmen (Kahl et al., 1985). Genoemde auteurs konden in vitro inderdaad aantonen dat PTU de omzetting van T_4 naar T_3 deed afnemen. Mogelijk kan in bijvoorbeeld lever- of nierweefsel nagegaan worden of de activiteit en/of hoeveelheid van dit enzym verminderd is na toediening van thyreostatica. Combest et al. (1980) hebben dit gedaan voor een eiwit kinase ("type I and II of cyclic AMP-depen-

dent proteïn kinases") na het verstrekken van PTU aan leghennen. Het bleek dat de eiwit kinase activiteit van de schildklier duidelijk gestegen was. Een ander enzym dat bestudeerd is is het peroxydase bij ratten. Fragu et al. (1970) voerden ratten een rantsoen dat een laag jodiumgehalte had en aan dit rantsoen werd geen en wel PTU toegevoegd. PTU verstrekking liet een duidelijk hogere peroxydase activiteit van de schildklier zien. We moeten er bij dit soort onderzoeken op bedacht zijn dat het gewicht van de schildklier ook een rol speelt. Als we de activiteit per eenheid (gewicht) schildklierweefsel uitdrukken dan kunnen we wel eens foute conclusies trekken.

Bergner et al. (1971) benaderden de werking van thyreostatica van de andere kant; thyreostatica zouden een beschadiging van de schildklier geven. Daardoor zouden de gehalten (in bloed) van bepaalde enzymen die op beschadigingen wijzen, toenemen. Zij namen een proef met varkens die MTU en raapzaadschroot kregen. MTU veroorzaakte een stijging van het GOT, een verlaging van het GPT en geen verandering in het LAP (leucinaminopeptidase) en arginase gehalte in het bloed. Raapzaadschroot liet een ander beeld zien, namelijk geen verandering van GOT, een verhoging van het arginase gehalte en een verlaging van het LAP gehalte. Zij wezen op literatuurgegevens van verschillende diersoorten die soms met hun resultaten overeenkwamen, soms zelfs tegengesteld waren.

CONCLUSIE: De resultaten van het onderzoek naar veranderingen in enzymssystemen zijn nog te wisselvallig en er is nog te weinig onderzoek gedaan om verantwoord conclusies te kunnen trekken. Volgens Vos (1986) zijn de resultaten van het onderzoek op het RIVM zodanig dat het thans nog niet zo zinvol lijkt hierop onze onderzoeksactiviteiten te richten.

Samenvatting en conclusies

De schildklier neemt duidelijk in grootte en gewicht toe na het gebruik van thyreostatica. Maar deze toename kan ook veroorzaakt worden door bepaalde ziekten (hormonale afwijkingen), het voeren van stoffen met thyreostatische werking zoals koolsoorten (brassica), jodiumtekort, bepaalde geneesmiddelen (sulfonamides). Het voeren van deze zogenaamde "goitrogens" komt vooral voor bij runderen en varkens en niet bij mestkalveren.

Deze veranderingen in grootte en gewicht van de schildklier gaan gepaard met histologische veranderingen in het weefsel van de schildklier. Ook is de produktie van T_3 en vooral T_4 duidelijk verlaagd. Maar genoemde veranderingen kunnen ook door ziekten, jodiumtekort en "goitrogens" veroorzaakt worden.

Terwijl de T_3 en T_4 gehalten nog door verschillende factoren zoals temperatuur, voeding, licht, stress, leeftijd enz. beïnvloed kunnen worden. En voor alle genoemde veranderingen geldt dat deze weer snel hun normale waarden bereiken na ophouden van de thyreostatica verstrekking (van enkele dagen voor de T_4 en T_3 -waarden tot enkele weken voor het gewicht van de schildklier). We kunnen ons afvragen of er dan nog wel iets over is van het eventueel positief effect op groei en voederverbruik.

Het aantonen van thyreostatica kan het best gebeuren in de schildklier omdat de gehalten daar het hoogst zijn, maar ook hier geldt dat deze snel gaan dalen na ophouden van de thyreostatica verstrekking.

Met onze huidige kennis lijkt thans de beste werkwijze, zoals die ook door Vos et al (1982) en Pochard (1983) aanbevolen wordt, :

- 1) bepaling van het gewicht van de schildklier op het slachthuis. Mogelijk moeten er voor de diverse diersoorten eerst meer schildkliergewichten vastgesteld worden om de normaalwaarden beter te leren kennen;
- 2) als het gewicht van de schildklier boven een bepaalde grens is, dan in dit weefsel thyreostatica bepalen (met behulp van bijvoorbeeld HPTLC);
- 3) op verdachte bedrijven voer en urine onderzoeken op thyreostatica.

In de toekomst mogelijk het vochtgehalte in het vlees bepalen (na vaststelling van normaalwaarden) en bepaling van meerdere hormonen (T_4 , T_3 en TSH) en dan ook naar hun onderlinge verhoudingen kijken. Te denken valt aan ca. 100 varkens en 100 runderen waarbij TSH, T_3 en T_4 in het bloed bepaald wordt. Maar al deze onderzoeken zullen vermoedelijk alleen maar aanwijzingen geven over het klandestiene gebruik van thyreostatica. Het absolute bewijs zal alleen maar geleverd worden als er thyreostatica aangetoond worden. Bij alle gangbare methoden plus de hier genoemde, die mogelijk in de toekomst gebruikt gaan worden, wordt nog niet voldaan aan de 5 eisen die in de inleiding genoemd zijn en waaraan bepalingmethoden zouden moeten voldoen.

We zullen nog meer onderzoek moeten doen en wel naar de relatie hoeveelheid thyreostatica in het voer en de gehalten in de schildklier (eventueel in lever, nier en spier). Verder is het van wezenlijk belang om de depletiecurve te kennen. Met name moeten we weten hoe lang na ophouden van de thyreostatica verstrekking we met de bestaande analysemethoden nog betrouwbare hoeveelheden in met name de schildklier kunnen aantonen. Hiervoor zou een proef met bijvoorbeeld 18 varkens uitgevoerd kunnen worden die een voer met thyreostatica krijgen en na 0, 1, 3, 7 en 14 dagen na ophouden van de thyreostaticaverstrekking geslacht worden (3 controledieren). Deze dieren zullen nauwkeurig gevolgd moeten worden wat betreft T_3 , T_4 , TSH en thyreostatica-gehalten in het bloed

en thyreostatica-gehalten in faeces en urine en uiteraard in schildklier, lever, nier en diverse spieren. Daarnaast gewicht en histologisch beeld van de schildklier bepalen. Mogelijk is het nog zinvol om m.b.v. bepaalde kleuringsmethodieken de gehalten aan bepaalde hormonen in schildklier en hypofyse te onderzoeken.

Literatuur

- Akiba, Y., Itoh, H. & Matsumoto, T. (1971). Rebound Phenomena in Thyroid Function after Withdrawal of Propylthiouracil in Growing Chicks. *Gen. Compar. Endocr.* 17:444-450.
- Almlid, T., Halse, K. & Tveit, B. (1982). Effects of Fasting on Blood Levels of Acetoacetate, Free Fatty Acids, Glucose, Insulin and Thyroxine in Bulls: Differences between Individuals. *Acta Agric. Scand.* 32:299-305.
- Berende, P.L.M. & Ruitenbergh, E.J. (1983). Modifying Growth: an Example of Possibilities and Limitations. Chapter 10, pp 191-233. In: L.J. Peel and D.E. Tribe (Editors), *Domestication, Conservation and Use of Animal Resources*. Elsevier Science publishers B.V., Amsterdam.
- Bergner, H., Wirthgen, B. & Münchow, H. (1971). Untersuchungen über den Einfluss von Methylthiourazol und Rapsextraktionsschrot auf einige Enzymaktivitäten des Eiweiszstoffwechsels beim Schwein. *Die Nahrung* 15:23-28.
- Blum, J.W., Jans, F., Moses, W., Fröhli, D., Zemp, M., Wanner, M., Hart, I.C., Thun, R. & Keller, U. (1985). Twentyfour-Hour Pattern of Blood Hormone and Metabolite Concentrations in High-Yielding Dairy Cows: Effects of Feeding Low or High Amounts of Starch, or Crystalline Fat. *Zbl. Vet. Med. A.* 32:-401-418.
- Blum, J., Venzin, I. & Lutz, H. (1986). Nachweis des Thyreostatikums Methylthiouracil (MTU) mittels Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC) und Hochleistungsdünnschichtchromatographie (HPTLC) in Gewebe und Tausaft beim Mastrind. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 128:419-424.

- Brabander, H.F. de & Verbeke, R. (1975). Detection of antithyroid residues in meat and some organs of slaughtered animals. *J. Chromatography* 108:141-151.
- Brüggemann, J., Barth, K. & Karg, H. (1962). Generationsversuche an Ratten zur Frage eventueller mittelbarer toxischer Wirkungen von Methylthiourazil nach Anwendung bei Maststieren. *Mh. Tierheilk.* 14:203-215.
- Collier, R.J., Doelger, S.G., Head, H.H., Thatcher, W.W. & Wilcox, C.J. (1982). Effects of heat stress during pregnancy on maternal hormone concentrations, calf birth weight and postpartum milk yields of Holstein cows. *J. Anim. Sci.* 54:309-319.
- Combest, W.L., Chiasson, R.B. & Russell, D.H. (1980). Alterations in Type I and Type II Protein Kinases in the Thyroid and Adenohypophysis in Response to a Dietary Goitrogen. *Gen. Comp. Endocr.* 40:494-502.
- Curtis, R.J. & Abrams, J.T. (1977). Circadian rhythms in the concentration of thyroid hormone in the plasma of normal calves. *Br. vet. J.* 133:134-144.
- Davicco, M.J., Vigouroux, E., Dardillat, C. & Barlet, J.P. (1982). Thyroxine, triiodothyronine and iodide in different breeds of newborn calves. *Reprod. Nutr. Dévelop.* 22:355-362.
- Dauncey, M.J., Ramsden, D.B., Kapadi, A.L., Macari, M. & Ingram, D.L. (1983). Increase in Plasma Concentrations of 3,5,3'-Triiodothyronine and Thyroxine after a Meal, and its Dependence on Energy Intake. *Horm. metabol. Res.* 15:499-502.
- Decuyper, E. & Kühn, E.R. (1984). Effect of fasting and feeding time on circadian rhythms of serum thyroid hormone concentrations, glucose, liver monodeiodinase activity and rectal temperature in growing chickens. *Dom. Anim. Endocr.* 1:251-262.
- Fields, C.L., Mitchell Jr., G.E., Boling, J.A., Tucker, R.E., Ludwick, R.L. & Bradley, N.W. (1971). Tapazole in steer finishing rations: Nitrogen metabolism. *J. Anim. Sci.* 33:1375-1380.
- Fox, J.D., Moody, W.G., Boling, J.A., Bradley, N.W. & Kemp, J.D. (1973). Effect of 1-methyl-2-mercaptoimidazole (Tapazole^{R 1}) feeding on muscle characteristics, fiber type and fatty acid composition of Charolais-Hereford steers. *J. Anim. Sci.* 37:438-442.
- Fragu, P., Ben Othman, S. & Nataf, B.M. (1979). Effect of PTU added to a low iodine diet on peroxidase activity and other parameters of thyroid function in rats. *Acta Endocr.* 91:462-472.
- Gissel, C. & Schaal, M. (1974). Eine dünnschichtchromatographische Untersuchungsmethode zum Nachweis von Thiouracilderivaten in der Schilddrüse schlachtbarer Haustiere. *Arch. Lebensmittelhyg.* 25:8-13.

- Frens, A.M. (1949). Proeven over het practisch effect van de toediening van methyl-thiouracil aan mestkoeien. Landbouwk. Tijdschr. 61:916-929.
- Frens, A.M. (1958). Proef met mestkoeien over het effect van het mestpreparaat "Vevoron". Landbouwk. Tijdschr. 70:138-144.
- Glade, M.J. & Reimers, T.J. (1985). Effects of dietary energy supply on serum thyroxine, tri-iodothyronine and insulin concentrations in young horses. J. Endocr. 104:93-98.
- Griem, W. (1973). Pathologisch-histologische Veränderungen von Schilddrüsen bei Rindern und Kaninchen nach Verfütterung von Methylthiouracil. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 86:50-56.
- Griem, W. (1975). Die postmortalen Veränderungen der Schilddrüse des Rindes. Die Fleischwirtschaft 55:1719-1723.
- Griggio, M.A. & Ingram, D.L. (1985). Effect of Long Term Differences in Energy Intake on Metabolic Rate and Thyroid Hormones. Horm. metabol. Res. 17:67-71.
- Grongnet, J.F., Grongnet-Pinchon, E. & Witowski, A. (1985). Neonatal levels of plasma thyroxine in male and female calves fed a colostrum or immunoglobulin diet or fasted for the first 28 hours of life. Reprod. Nutr. Dévelop., 25:537-543.
- Hammond, A.C., Huntington, G.B. & Bitman, J. (1984). Effect of nitrogen intake on and rhythmicity circulating thyroid hormones in steers. Dom. Anim. Endocr. 1:29-42.
- Herbrüggen, H., Waginger, H. & Kruzik, P. (1983). Thyreostatisch wirkende Stoffe in Nahrungsmitteln - 1. Mitteilung: Überblick. Wien. tierärztl. Mschr. 70:19-27.
- Hart, I.C., Bines, J.A., Morant, S.V. & Ridley, J.L. (1978). Endocrine control of energy metabolism in the cow: comparison of the levels of hormones (Prolactin, growth hormone, insulin and thyroxine) and metabolites in the plasma of high- and low-yielding cattle at various stages of lactation. J. Endocr. 77:333-345.
- Henning, W. (1986). Kurzmitteilungen aus der Praxis. Lebensmittelchem. Gerichtl. Chem. 40:1-5.
- Jahreis, G., Hesse, V., Schöne, F., Lüdke, H., Hennig, A. & Mehnert, E. (1986). Einfluss von Nitrat und pflanzlichen Goitrogenen auf die Schilddrüsenhormone, den Somatomedinstatus und das Wachstum beim Schwein. Mh. Vet.-Med. 41:528-530.

- Jahreis, G., Hesse, V., Plenert, W., Hennig, A., Schöne, F. & Lüdke, H. (1985). Influence of Phytogetic Substances with Thyreostatic Effects in Combination with Iodine on the Thyroid Hormones and Somatomedin Level in Pigs. *Exp. Clin. Endocrinol.* 85:183-190.
- Jovanović, M., Durdević, D. & Stojić, V. (1982). Serum thyroxine and tri-iodothyronine in newborn calves. *Acta Veterinaria (Beograd)* 32:73-78.
- Kahl, S., Wrenn, T.R. & Bitman, J. (1977). Plasma tri-iodothyronine and thyroxine in young growing calves. *J. Endocr.* 73:397-398.
- Kahl, S., Bitman, J. & Rumsey, T.S. (1985). In vitro studies of the effect of propylthiouracil and ronnel on thyroxine-5-monodeiodinase activity in steers. *J. Anim. Sci.* 61:197-202.
- Karg, H. (1964). Einsatz von Wirkstoffen in der Tierhaltung und endokrine Testfunktion. *Tierärztliche Umschau* 6:292-306.
- Kesler, D.J. (1981). Postpartum Concentrations of Thyroxine in Plasma of Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 64:1618-1620.
- Laitem, L. & Gaspar, P. (1977). Gas chromatographic determination of methylthiouracil residues in meat and organs of slaughtered animals. *J. Chrom.* 140:266-269.
- Körper, R., Gürtler, H., Pethes, G., Furcht, G., Wenzel, R., Rudas, P. & Spielke, W. (1983). Untersuchungen zur Schilddrüsenfunktion bei Ferkeln mit Jodmangelsymptomen sowie zur oralen Jodtherapie tragender und säugender Sauen. *Mh. Vet.-Med.* 38:694-699.
- Körper, R., Jäkel, L., Zastrow, H.J., Knoblauch, H. & Rossow, N. (1984). Untersuchungen zur pathophysiologischen Wirkung des Jodmangels auf die Fruchtbarkeit von Kühen. *Mh. Vet.-Med.* 39:805-808.
- Kuckro, G. (1977). Praktische Erfahrungen mit der Rückstandsuntersuchung auf Thyreostatika nach dem im Fleischbeschaugesetz vorgeschriebenen Verfahren. Inaugural-Dissertation, Giessen.
- Lange, W., Kühnelt, W., Alert, H.J. & Schuffenhauer, W. (1974). Untersuchungen über die mastfördernde Wirkung von Mestranol bei Jungbullen. *Arch. exp. Vet. Med.* 28:759-768.
- Leung, F.C., Taylor, J.E. & van Iderstine, A. (1984). Thyrotropin-Releasing Hormone Stimulates Body Weight Gain and Increases Thyroid Hormones and Growth Hormone in Plasma of Cockerels. *Endocrinologie* 115:736-740.
- Leung, F.C., Taylor, J.E. & Van Iderstine, A. (1985). Effects of Dietary Thyroid Hormones on Growth, Plasma T₃ and T₄, and Growth Hormone in Normal and Hypothyroid Chickens. *Gen. Comp. Endocr.* 59:91-99.

- Macari, M., Dauncey, M.J., Ramsden, D.B. & Ingram, D.L. (1983). Thyroid hormone metabolism after acclimatization to a warm or cold temperature under conditions of high or low energy intake. *Quart. J. Exper. Physiol.* 68:709-718.
- May, J.D. & McNaughton, J.L. (1980). Effects of Dietary Ascorbic Acid, Aspirin, Lysine, and Thiouracil on Thyroid Activity. *Poultry Sci.* 59:893-899.
- Marks, H.L. & Howarth Jr., B. (1973). Influence of method of administering thiouracil on thyroid variability. *Poultry Sci.* 52:383-385.
- Millar, K.R. & Albyt, A.T. (1985). Evaluation of R.I.A. kits for the measurement of thyroid hormones in sheep and cattle sera. *N.Z. vet. J.* 33:116-117.
- Peo, E.R., Jr. & Hudman, D.B. (1960). Supplementation of pig starters with thyroprotein. *J. Anim. Sci.* 19:477-483.
- Pethes, G., Bokori, J., Rudas, P., Frenyó, V.L. & Fekete, S. (1985). Thyroxine, Triiodothyronine, Reverse-Triiodothyronine and Other Physiological Characteristics of Periparturient Cows Fed Restricted Energy. *J. Dairy Sci.* 68:1148-1154.
- Pochard, M.-F., Karageorgis, M. & Chevalier, M. (1984). Dosage du méthylthiouracile dans du plasma de bovin par chromatographie liquide haute performance sur phase inverse. *J. Chromat.* 298:183-188.
- Pochard, M.-F. (1983). Contrôle des résidues de thyrostatiques dans la thyroïde et le muscle de bovin. Recherche et dosage dans les aliments. *Bull. Acad. Vét. de France* 56:73-82.
- Pohlschmidt, J. & Forschner, E. (1979). Untersuchung des Thyroxinspiegels von Mastbullen unter Methylthiouracil-Einfluss mit Hilfe eines Radioimmunsassays. Der Radioimmunsassay als Alternativverfahren zur histologischen Untersuchung der Schilddrüse. *Fleischwirtsch.* 59:253-255.
- Pohlschmidt, J. & Forschner, E. (1979). Dünnschichtchromatographischer Nachweis von Methylthiouracil (MTU) in Blutserum und Muskelsaft von Mastriestern. *Fleischwirtsch.* 59:557-560.
- Riis, P.M. & Madsen, A. (1985). Thyroxine concentrations and secretion rates in relation to pregnancy, lactation and energy balance in goats. *J. Endocr.* 107:421-427.
- Roy, J.H.B., Hart, I.C., Gillies, C.M., Stobo, I.J.F., Ganderton, P. & Perfitt, M.W. (1983). A comparison of preruminant bull calves of the Hereford x Friesian, Aberdeen Angus x Friesian and Friesian breeds. Plasma metabolic hormones in relation to age, and the relationship of metabolic hormone concentration with dry-matter intake and heart rate. *Anim. Prod.*

- 36:237-251.
- Schalch, D.S. & Cree, T.C. (1985). Protein Utilization in Growth: Effect of Calorie Deficiency on Serum Growth Hormone, Somatomedins, Total Thyroxine (T₄) and Triiodothyronine, Free T₄ Index, and Total Corticosterone. *Endocr.* 117:2307-2317.
- Sihombing, D.T.H., Cromwell, G.L. & Hays, V.W. (1974). Effects of protein source, goitrogens and iodine level on performance and thyroid status of pigs. *J. Anim. Sci.* 39:1106-1112.
- Sinha, K.N., Anderson, R.R. & Turner, C.W. (1967). Effect of 1-Methyl-2-Mercaptoimidazole (Methimazole-Tapazole) on DNA Content of the Chicken Thyroid Gland. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 126:228-431.
- Sorensen, T., Kruse, V. & Bech Andersen, B. (1981). Thyroxine degradation rate in young bulls of Danish dual-purpose breeds, genetic relationship to weight gain, feed conversion and breeding value for butterfat production. *Livest. Prod. Sci.* 8:399-406.
- Stojanović, V. & Brunn, H. (1983). Rückstände in Schlachttieren und Lebensmitteln tierischer Herkunft - Untersuchungen und Problematik. *Tierärztl. Umschau* 38:863-868.
- Strath, R.A., Basarab, J.A., Thompson, J.R. & Berg, R.T. (1982). Thyroid hormone concentrations: some kinetic parameters of triiodothyronine and metabolic rate in 'double-muscled' cattle. *Can. J. Anim. Sci.* 62:387-395.
- Thomas, J.W. (1953). The use of thyroprotein for milk production. *Hormonal Relationships and Applications in the Production of Meats, Milk and Eggs.* NAS-NRC publ. 266, pp. 47-54.
- Tveit, B. & Larsen, F. (1983). Suppression and stimulation of TSH and thyroid hormones in bulls during starvation and refeeding. *Acta Endocr.* 103:223-226.
- Vos, J.G., Stephany, R.W., Caspers, J.W., Loon, J.Th.G. van, Metzlar, J.W.H. & Overhaus, H.B.M. (1982). Weight increase of the thyroid gland as a tentative screening parameter to detect the illegal use of thyreostatic compounds in slaughter cattle. *Vet. Quarterly* 4:1-4.
- Vos, J.C. (1986). *Persoonlijke mededeling.*
- Wallace, A.L.C. (1979). Variations in Plasma Thyroxine Concentrations throughout One Year in Pinned Sheep on a Uniform Feed Intake. *Aust. J. Biol. Sci.* 32:371-374.

- Whiteker, M.D., Brown, H., Barnhart, C.E., Kemp, J.D. & Varney, W.Y. (1959). Effects of methylandrostenediol, methyltestosterone and thyroprotein on growth and carcass characteristics of swine. *J. Anim. Sci.* 18:1189-1195.
- Winchester, C.F. (1953). Some uses of drugs and hormones in beef cattle, sheep, and swine husbandry. In: *Hormonal Relationships and Application in the Production of Meats, Milk and Eggs*. NAS-NRC publ. 266, pp. 31-40.
- Winter, H. & Massey, J.C. (1981). Postmortem identification of thyrostatic drugs. *Austr. Vet. Ass. Yearbook*, pp. 245-247.
- Wöhlbier, W. & Schneider, W. (1966). Der Stoffansatz bei Ochsen unter dem Einfluss von Methylthiouracil. *Z. Tierphys., Tierernähr. u. Futtermittelk.* 21:34-40.
- Yen, J.T. & Pond, W.G. (1985). Plasma thyroid hormones, growth and carcass measurements of genetically obese and lean pigs as influenced by thyroprotein supplementation. *J. Anim. Sci.* 61:566-572.