## ACTIVITE ANTITHYROIDIENNE

## DES TOURTEAUX DE COLZA (BRASSICA NAPUS L.)

#### CHEZ LES OVINS

G. Molenat, J. Michelot et M. Theriez

L'effet goitrigène du tourteau de colza et plus particulièrement du tourteau provenant des graines de Brassica Napus L. a été mis en évidence à maintes reprises chez les monogastriques et les volailles (BELL, 1955; BELL et BELZILE, 1965; BOWLAND, 1965; CLANDININ et ROBBLEE, 1966). La présence d'un thioglucoside (progoitrine) qui, sous l'action de la myrosinase, libère la goitrine (5 vinyl-2-oxazolidinethione ou VTO) explique l'action antithyroidienne de ce tourteau. En revanche, on a longtemps admis que les ruminants étaient insensibles à l'effet de cet aliment, par suite de la déstruction de la goitrine dans le rumen ou de son hydrogénation en une substance voisine inactive. De fait, il a été observé que 0,05 à 0,1 p. 100 seulement de la quantité totale de VTO ingérée par une vache se retrouvait dans le lait (VIRTANEN, 1958, 1959).

Pourtant, nous avons mis en évidence un accroissement du poids de la glande thyroide des ovins après ingestion de tourteau de colza (THERIEZ et al., 1971). Ce phénomène s'accompagnait dans la glande d'une augmentation de la taille des cellules épithéliales et d'une élévation du rapport des concentrations en précurseurs hormonaux (MIT/DIT). De même, des hypertrophies thyroidiennes ont été observées sur des taurillons reçevant du tourteau de colza (GEAY et BERANGER, publ. en cours), sur des agneaux sevrés pâturant des choux ou du colza (RUSSELL, 1967; SIN-CLAIR et ANDREWS, 1959) et même sur des agneaux nouveaux nés dont les mères avaient pâturé des choux durant la gestation (ANDREWS et SINCLAIR, 1962). Enfin l'apparition de goitres a été signalée en Tasmanie chez des enfants reçevant du lait de vaches nourries avec du chou (KELLY et SNEDDEN, 1962).

Malgré le rôle toujours possible du rumen, il semble donc que les quantités de VTO qui parviennent dans la circulation des ruminants nourris avec du tourteau de colza peuvent être suffisantes pour provoquer une réaction thyroidienne. Il devenait alors nécessaire d'approfondir les mécanismes de cette réaction et nous avons étudié le fonctionnement de la glande thyroide d'agneaux reçevant ce tourteau (Brassica Napus L.).

D'autre part, la fermentation du tourteau de colza pendant environ 48 heures par Goetricum Candidum, permettant d'éliminer la VTO (STARON, 1970), nous avons inclus le tourteau fermenté dans notre étude. Le tourteau de lin a été utilisé comme témoin.

Les régimes expérimentaux différaient uniquement par la nature du tourteau incorporé à raison de 15 % à l'aliment concentré (régime "témoin lin", régime "colza toasté", régime "colza fermenté"). Cette expérimentation a été poursuivie selon deux voies. Dans un premier essai, nous nous sommes attachés à confirmer nos observations antérieures sur la morphologie, l'histologie et la biochimie thyroidiennes chez les animaux alimentés avec du tourteau de colza (THERIEZ et al., 1971) et nous avons étudié les mêmes paramètres lorsque les animaux reçevaient du tourteau de colza fermenté. Dans un deuxième essai nous avons effectué une étude cinétique de la fixation d'iode radioactif par la thyroide à différents temps de l'expérience. Lors de chaque injection d'iode radioactif, nous avons également mesuré l'importance respective des différentes fractions iodées marquées du plasma.

## Essai I - Etude morphologique, histologique et biochimique

21 agneaux sevrés, âgés de 9 semaines, ont été répartis en 3 lots de 7 (1 lot par régime). Chaque lot recevait à volonté et en libre choix l'aliment concentré qui lui était affecté et du foin de pré. Chaque fois qu'un agneau atteignait le poids vif de 36 kg, il était abattu. Les premiers abattages ont eu lieu après 51 jours d'expérience et les derniers après 85 jours. Immédiatement après la saignée, la glande thyroide de chaque animal était prélevée puis pesées. Des incidents survenus lors des abattages ne nous ont permis de disposer que de 6 glandes par régime. Un lobe était ensuite fixé puis traité dans les mêmes conditions que dans nos travaux antérieurs (THERIEZ et al., 1971) en vue de l'étude histologique. Sur l'autre lobe, nous avons dosé les précurseurs hormonaux (monoiodotyrosine: MIT et diiodotyrosine: DIT) sur autoanalyseur Technicon selon la méthode de BLOCK et MANDL (1962) modifiée par AQUARON (1968).

Afin de préciser le délai d'apparition des phénomènes thyroidiens liés à l'ingestion de tourteau de colza, nous avons utilisé 15 agneaux supplémentaires. Répartis en 3 lots de 5 (1 lot par régime), ils ont reçu les aliments expérimentaux pendant 15 jours, période à l'issue de laquelle ils ont été abattus. Leur âge moyen était alors de 135 jours et leur poids moyen s'élevait à 37,2 kg pour les lots "lin" et "colza toasté" et à 37,7 kg pour le lot "colza fermenté". Les glandes thyroides de ces animaux ont été prélevées et traitées dans les mêmes conditions que ci-dessus.

Nous n'avons pas observé de différences significatives entre les régimes ni pour la croissance, ni pour les quantités ingérées (tableau 1). Cependant, les agneaux du lot "colza toasté" ont consommé moins d'aliment concentré (donc moins de tourteau) et plus de foin que ceux des autres lots. Les facteurs d'inappétibilité du tourteau de colza, que le toastage ne parvient pas à faire disparaître entièrement (THERIEZ et al., 1971) doivent donc être éliminés par le procédé technologique de la fermentation.

A l'abattage, après 68 jours de régime en moyenne, les agneaux du lot "colza toasté" présentent des glandes thyroides plus lourdes, avec des cellules épithéliales plus hautes et des follicules thyroidiens plus volumineux que ceux du lot "lin"; toutes ces différences sont hautement significatives (tableau 2). Le rapport des concentrations en précurseurs hormonaux

	RÉGIME - DIET			
	LIN	COLZA TOASTE	COLZA FERMENTÉ	
	LINSEED MEAL	TOASTED RAPESEED MEAL	FERMENTED RAPESEED MEAL	
NOMBRE D'ANIMAUX - NUMBER OF LAMES POIDS VIF INITIAL (KG) - INITIAL LIVE WEIGHT (KG) POIDS VIF À L'ABATTAGE (KG) - STANGETER WEIGHT (KG) DURÉE D'ENGRAISSEMENT (J) - DURATION OF FACTENING PERIOD (DAYS)	7	7	7	
	17,43 ± 2,83	17,56 ± 3,50	17.60 ± 3.73	
	35,82 ± 1,86	34,54 ± 3,84	35.77 ± 1.57	
	69 ± 11	64 ± 13	65 ± 13	
CHANTITÉ DE MATIÈRE SÈCHE INSÉRÉE (KG/ANIMAL/JOUR) DRY MATTER INDAKE (KG/ANIMAL/JOUR) ALIMENT CONCENTRATE FOIN - RAY MATIÈRE SÈCHE TOTALE - TOTAL DM	0.823	0,713	0,815	
	0.248	0,300	0,237	
	1.071	1,013	1,052	
CUMNTITÉ DE TOURTEAU INGÉRÉE (KG/ANIMAL/JOUR) TOTAL MEAL INTAKE (KG/ANIMAL/DAY)	0,146	0,126	0.144	

TABLEAU 1 POIDS VIFS MOYENS, CROISSANCE ET GLANTITÉS INSÉRÉES DES AGNEAUX DE BOUCHERIE TABLE 1 MEAN LIVE WEIGHT, WEIGHT GAIN AND INTAKS OF SLAUGHTER LAMBS

	NOMBRE D'AGNEAUX	POIDS DES GLANDES THYROIDES	DIAMETRE DES FOLLICULES THYROIDIENS	HAUTEUR DES CELLULES EPITHELIALES	RAPPORT MIT
	NUMBER OF LAMBS	THYROID WEIGHT 9	THYROIDAL FOLLICLE DIAMETER	EPITHELIAL CELL HEIGHT	MIT RATIO
ASNEAUX ABATTUS APRES 51 A 85 JOURS D'EXPERIENCE LAMBS SLAUGHTERED AFTER 51 TO 85 DAYS ON EXPERIMENT			,		
LIN - LINSEED MEAL	6	2.62 ± 0.31a	56,9 ± 12,1a	7,9 ± 0,4a	0.514
COLZA TOASTE - TOASTED RAPESEED MEAL	6	5,70 ± 2,56d	84.6 ± 20.6e	9.8 ± 1.6e	0,905
COLZA FERMENTE - FERMENTED RAPESEED MEAL	6	3.05 ± 0.60f	66.7 ± 16.9bf	9.0 ± 1.4d	0.642
AGNEAUX ABATTUS APRES 15 JOURS D'EXPERIENCEY LAMBS SLAUGHTERED AFTER 15 DAYS ON EXPERIMENT					
LIN - LINSEED NEAL	5	2.82 ± 0.86	62.0 ± 12.3a	10.0 ± 1.0b	0,586
COLZA TOASTE - TOASTED RAPESEED MEAL	5	3.67 ± 0.38	70.3 ± 10.2c	10,7 ± 1,3a	0,749
COLZA FERMENTE - FERMENTED RAPESEED MEAL	5	3,38 ± 1,75	66,6 ± 11,8	9,4 ± 0,9c	0,619
	< 0.08	- ad ou cf	: P < 0,0 <b>0 €</b>		,
STATISTICAL SIGNIFICANCE . df : P		- ae:	P < 0,001		

M I T : monoiodotyrosine - D I T : diiodotyrosine  $^{ullet}$  Ces animalx ne sont pas de meme race que les autres - Lambs of another breed

TABLEAU 2 CAPACTERISTIQUES DES GLANDES THYROIDES PRELEVEES SUR LES AGNEAUX DE BOUCHERIE
TABLE 2 WEIGHT, HISTOLOGY AND BIOCHEMISTRY OF THYROID GLANDS OF LAMBS WITH AN AVERAGE AGE OF 4 MONTHS AT SLAUGHTER

(MIT/DIT) est également augmenté par l'ingestion de tourteau de colza. Ce rapport, voisin de 1, suggère l'existence d'un goitre, la VTO ayant pour effet l'inhibition de l'iodation de la MIT en DIT comme cela semble être le cas chez le poussin et le rat (MATSUMOTO et al., 1969; SIMON et al., 1973). L'apparition de ces troubles thyroidiens est à la fois rapide et progressive, comme le montrent les résultats obtenus après seulement 15 jours de régime.

Pour tous ces paramètres, les animaux ayant reçu le tourteau de colza fermenté se placent en position intermédiaire entre ceux des lots "lin" et ceux des lots "colza toasté" mais la seule différence significative par rapport au lin concerne la hauteur des cellules épithéliales après 66 jours d'expérience. La fermentation n'a donc probablement pas fait disparaitre entièrement la goitrine à moins que d'autres substances goitrigènes soient en cause.

## Essai II - Etude cinétique avec l'iode radioactif

Nous avons utilisé 12 agnelles d'élevage agées de 9 semaines au début de l'expérience. Elles ont été réparties en 3 lots de 4 animaux (1 lot per régime). Les différents aliments étaient distribués dans les mêmes conditions que pour l'essai I.

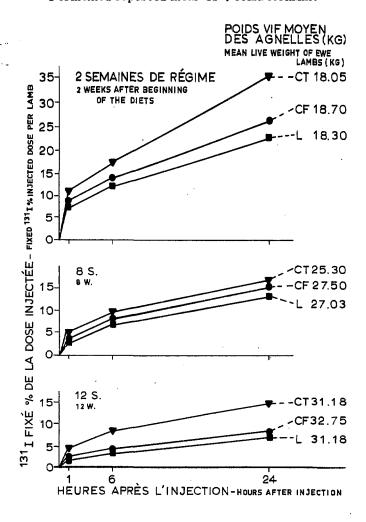
Sur tous ces animaux nous avons étudié 2, 8 et 12 semaines après le début de la distribution des aliments expérimentaux, les paramètres suivants:

- Mesure directe de la fixation thyroidienne en fonction du temps (JOURDE, 1963). Après injection intraveineuse de  $25~\mu{\rm Ci}$  de Na<sup>131</sup>I (sans entraineur), on a mesuré, en spectrophotométrie  $\gamma$ , le pourcentage de fixation de l'iode radioactif dans la thyroide par rapport à la dose injectée. Cette mesure était effectuée 1 h, 6 h et 24 h après l'injection de Na<sup>131</sup>I, chaque fois, dans des conditions physiques et géométriques aussi comparables que possible (cristal de 5cm/5cm; préfiltration de 0,5 mm de plomb; distance cristal-peau; 35 cm). La dose test était mesurée dans les mêmes conditions.
- Test résine de BLANQUET, MEYNIEL et SAUDIE (1960). Ce test a été appliqué à des échantillons de plasma provenant de sangs prélevé sur héparine 24 et 48 h après l'injection de 25 µCi de Na $^{131}$ I. Son principe est fondé sur l'utilisation conjuguée de résines anionique (DOWEX 1 x 2 200-400 mesh sous forme Cl ou OH) et cationique (DOWEX 50 x 2 200-400 mesh sous forme H) permettant de séparer trois fractions iodées marquées dans le plasma: F<sub>1</sub> fixée sur la résine anionique et correspondant à l'iode minéral, F<sub>2</sub> retrouvée dans le filtrat et formé de grosses molécules de peptides iodés et surtout F<sub>3</sub> fixée sur la résine cationique comprenant les hormones thyroidiennes (thyroxine T<sub>4</sub> et triiodothyronine T<sub>3</sub>) libres ou faiblement liées aux protéines plasmatiques vectrices.

Enfin, deux semaines après la dernière injection d'iode radioactif, soit 14

Figure 1: Taux de fixation de Na 131 par la glande thyroide en fonction du temps après l'injection d'iode radioactif et du régime 131 thyroidal uptake as a function of diet and time after injection of radiodine

Linseed meal (control) L: lin (témoin)
Toasted rapeseed meal CT: colza toasté
Fermented rapeseed meal CF: colza fermenté



semaines après le début des régimes différentiels, nous avons prélevé sur toutes les agnelles un échantillon de sang pour la détermination de la thyroxine totale du sérum par la méthode de compétition in vitro (MURPHY et PATTEE, 1964) et du pourcentage de T<sub>3</sub> par le test d'HAMOLSKY et al., 1957; MITCHELL, 1958.

Les poids vifs moyens des animaux lors des 3 mesures de fixation d'iode sont reportés sur la figure 1; ils sont chaque fois, très voisins d'un lot à l'autre.

L'étude de la fixation thyroidienne de Na 131 montre, chez les agnelles reçevant du tourteau de colza toasté, une glande avide d'iode qui capte cet élément plus rapidement et en quantité plus importante qu'avec le régime témoin (figure 1). De même, l'iode radioactif injecté est utilisé plus rapidement dans le cas du colza toasté pour produire plus d'hormones iodées marquées que l'on retrouve dans le plasma (figure 2). Par contre, en l'absence d'apport externe d'iode, le taux des hormones circulantes ne semble pas affecté par le régime (tableau 3). Là encore, nous avons observé que le tourteau de colza fermenté produisait les mêmes réactions, mais à un degré moindre.

Figure 2: Variations du pourcentage de la fraction F<sub>3</sub> marquée par rapport au Na<sup>131</sup>I total du plasma en fonction du régime et du temps après l'injection

The changes of percentage of radioactive F<sub>3</sub> part to total Na<sup>131</sup>I in plasma as a function of diet and time after injection of radioiodine

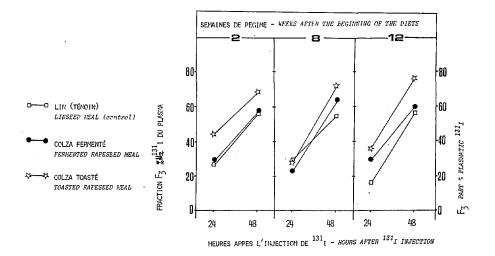


Tableau 3: Hormones circulantes - Plasmatic hormones

Régime - Diet	Thyroxine (µg/100ml)	Triiodothyronine (%)		
Lin Linseed meal	8,2			
Colza toasté Toasted rapeseed meal	9,8	31,7		
Colza fermenté Fermented rapeseed meal	7,8	36,5		

#### Discussion

Tous ces phénomènes suggèrent l'existence d'un goitre sans hyperthyroidie induit par le tourteau de colza puisqu'on ne note pas d'augmentation sensible du taux d'hormones circulantes. Cependant, comme chez (MAT-SUMOTO et al., 1969), les volailles la glande thyroide capte et utilise rapidement tout apport externe d'iode. L'hypertrophie serait alors un processus de compensation au ralentissement de l'activité du tissu glandulaire. La biosynthèse des hormones étant inhibée dans le corps thyroide par la VTO, la glande réagit par une augmentation de volume peut-être sous l'effet d'une hypersécrétion de TSH hypophysaire, ce qui est conforme à l'hypothèse émise par ROCHE et LISSITZKY (1962) et CLANDI-NIN et ROBBLEE (1966). C'est au niveau de l'iodation de la monoiodo-3-L-tyrosine en diiodo-3-5-L-tyrosine que semble s'exercer l'action de la VTO. Il existe donc bien des analogies entre le mode d'action de la goitrine et celui du thiouracile et de ses dérivés (ROCHE et LISSITZKY, 1962) et les ovins réagissent à cet antithyroidien de la même façon que les monogastriques et les volailles. Leur réaction semble cependant beaucoup moins intense et n'affecte ni la croissance, ni la composition corporelle, ce qui accrédite l'hypothèse d'une déstruction ou d'une inactivation, tout au moins partielle de la VTO, dans le rumen.

Enfin, le procédé de fermentation proposé (STARON, 1970) ne fait pas disparaitre en totalité l'action antithyroidienne du tourteau de colza mais il la diminue fortement tout en augmentant l'appétibilité de cet aliment.

## Summary

# Goitrogenic effects of rapeseed meal (Brassica Napus L.) in the ovine

The effects of rapeseed meal (Brassica Napus L.), fermented rapeseed meal (48 hours in fermentation with Goetricum Candidum) and linseed meal (control) on the ovine thyroid gland were compared. Three concentrates, each containing 15 % of one of the three meals were fed ad libitum to 3 groups of 16 lambs each: "Control" group, "toasted rapeseed" group and "fermented rapeseed" group. The average age of the lambs was 9 weeks at the beginning of the experiment.

The daily meal intakes were, on an average 146, 124 and 144 g for the "control", "toasted rapeseed" and "fermented rapeseed" groups, respectively.

7 lambs from each group were slaughtered on an average, after 66 days on experiment. The thyroid glands of the lambs fed toasted rapeseed meal were significantly heavier than those of the control; they also showed significantly higher epithelial cells. A large increase of the ratio MIT/DIT (monoiodotyrosine/diiodotyrosine) was also observed in the rapeseed meal group. Intermediate results were obtained with fermented rapeseed meal.

5 lambs in each group, slaughtered after 15 days only on experiment, showed that these phenomena were already initiated.

The remaining 4 animals in each group were females on which we studied radioioding uptake by the thyroid 2, 8 and 12 weeks after the beginning of the experiment. Plasmatic thyroxine was also determined. The ewe-lambs which received rapeseed meal showed the highest thyroidal uptake of Na<sup>131</sup>I and the highest rate of plasmatic radiohormones 24 or 48 hours after Na<sup>131</sup>I dosage. Results of the "fermented rapeseed" group were intermediate between those of the two groups. The plasmatic thyroxine was slightly higher in the "toasted rapeseed" group.

It is concluded that rapeseed meal has goitrogenic effects in ovines and that the goitrogenic factors are not completely destroyed by fermentation.

#### Références

- ANDREW, E.D. et D. P. SINCLAIR (1962): Proc. N. Z. Soc. Anim. Prod. <u>22</u>, 123-132
- 2. AQUARON, R. (1968):

  Thèse de la Faculté de Médicine de Marseille
- 3. BELL, J. M. (1955): Can. J. Agric. Sci. <u>35</u>, 242-251

- BELL, J. M. et R. J. BELZILE (1965): In: Rapeseed meal for livestock and poultry.
   A Review, p. 45-60, Can. Dep. Agr. Publ. 1257, Ottawa
- 5. BLANQUET, P., G. MEYNIEL et J. C. SAUDIE (1960): C. R. Acad. Sci. Paris 250
- BLOCK, R. J. et R. M. MANDL (1962);
   N. Y. Acad, Sci. t. 102-87
- 7. BOWLAND, J.P. (1965): Rapeseed meal for livestock and poultry.
  A Review, p. 69-80, Can. Dep. Agr. Publ. 1257, Ottawa
- 8. CLANDININ, D.R. et A.R.ROBBLEE (1966); World's Poultry Sci. J. 22, 217-232
- 9. GEAY, Y. et C. BERANGER (publication en cours)
- HAMOLSKY, M. W., M. STEIN et FREEDBERG (1957):
   J. Clin. Endocr. Metab. 17, 33
- 11. JOURDE, H. (1963):

  Thèse de doctorat en médecine. Clermont-Ferrand
- KELLY, F. C. et W. W. SNEDDEN (1962): In: Le goitre endémique, p. 27-241, Monographie n<sup>o</sup> 44 OMS ed.
- 13. MATSUMOTO, T., H. ITOH et Y. AKIBA (1968): Poultry Sci. 47, 1323-1330
- 14. MATSUMOTO, T., H. ITOH et Y. AKIBA (1969):
  Poultry Sci. 48, 1061-1069
- MITCHELL, M. L. (1958): J. Clin. Endocr. Metab. <u>18</u>, 1437
- MURPHY, B. E. P. et C. J. PATTEE (1964);
   J. Endocr. Metab. <u>24</u>, 187
- 17. ROCHE, J. et S. LISSITZKY (1962): Le goitre endémique, p. 363-382 Monographie n° 44 OMS ed.
- 18. RUSSEL, A. J. F. (1967):
  Anim. Prod. 9, 131-133
- SIMON, O., B. WIRTHGEN et H. BERGNER (1973): Arch. Tierernähr. 23, 157-164
- SINCLAIR, D. P. et E. D. ANDREWS (1959):
   N. Z. Vet. J. 7, 39-41
- STARON, T. (1970): Journées internationales sur le colza. Paris 26-30 mai, p. 482-496
- THERIEZ, M., N. GRENET et G. MOLENAT (1971);
   Ann. Zootechn. 20, 451-463
- 23. VIRTANEN, A.I. (1958):
  Acta Chem. Scand. 12, 580 (abstr.)

# 24. VIRTANEN, A.I. (1959):

Acta Chem. Scand. 13, 1043 (abstr.)

## Remerciements

Cette étude a pu être réalisée grâce à l'aide financière du CETIOM, Paris.