



UNIVERSITÀ DI PARMA

ANNALI
DELLA
FACOLTÀ DI MEDICINA
VETERINARIA

VOL. XXXI
2011

FACOLTÀ DI MEDICINA VETERINARIA DI PARMA
2011

Publicazione ufficiale della Facoltà di Medicina Veterinaria
dell'Università di Studi di Parma
Finito di stampare nel Maggio 2013

DIRETTORE RESPONSABILE

Prof. Fausto Quintavalla

COMITATO DI DIREZIONE

Sandro Cavirani
Roberto Ramoni
Roberta Saleri
Andrea Salghetti
Simone Taddei

SEGRETERIA DI REDAZIONE

BIBLIOTECA GENERALE DELLA FACOLTÀ DI MEDICINA VETERINARIA
DELL'UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PARMA

Via del Taglio, 8

43100 PARMA (ITALY)

Tel. +39-0521/032654/56

Fax +39-0521/032737

Responsabile: Angelo Ampollini

La pubblicazione è disponibile on-line sul sito
<http://www.unipr.it/arpa/facvet/annali/index.htm>

ISSN 0393-4802

I volumi degli annali possono essere chiesti in scambio da altre Università o Istituzioni
culturali rivolgendosi alla Segreteria di Redazione

INDICE

Personale docente e tecnico amministrativo della Facoltà di Medicina Veterinaria.....	pag. 5
Afferenze del personale docente ai dipartimenti e servizi della Facoltà.....	pag. 11
MOLECULAR TOXINOTYPING OF CLOSTRIDIUM PERFRINGENS AND CLOSTRIDIUM DIFFICILE CATTLE AND SWINE ISOLATES BY PCR ASSAYS <i>TIPIZZAZIONE MOLECOLARE MEDIANTE PCR DI CEPPI BOVINI E SUINI DI CLOSTRIDIUM PERFRINGENS E CLOSTRIDIUM DIFFICILE</i>	
Zerbini Laura, Ossiprandi Maria Cristina.....	pag. 15
LA NORMAZIONE	
G. Signorini, G. Biagi, D. Dilaghi, G. Carlini, L. Caggiati	pag. 31
MILK PROTEIN GENETIC COMBINATIONS, MINERAL COMPOSITION AND RENNET-COAGULATION PROPERTIES OF THE MILK <i>COMBINAZIONI GENETICHE DELLE PROTEINE, COMPOSIZIONE MINERALE E PROPRIETÀ DI COAGULAZIONE DEL LATTE</i>	
Marchini Costanza, Malacarne Massimo, Franceschi Piero, Formaggioni Paolo, Summer Andrea, Mariani Primo	pag. 45
FOOD LABELLING IN EUROPE: MANDATORY “COUNTRY OF ORIGIN” EXTENDED TO MORE FOODS <i>ETICHETTATURA DEGLI ALIMENTI NELL’UNIONE EUROPEA: L’OBBLIGATORIETA’ DEL PAESE DI ORIGINE ESTESA AD ALTRI ALIMENTI</i>	
D’Elia Giuliano, Alpigiani Irene, Bonardi Silvia, Bacci Cristina, Lanzoni Elisa, Brindani Franco	pag. 65
PATOLOGIE DEL SISTEMA ENDOCRINO NEI MAMMIFERI DOMESTICI	
Cantoni Anna Maria, Marchetti Cristina, Corradi Attilio	pag. 81

**PERSONALE DOCENTE E TECNICO AMMINISTRATIVO
DELLA FACOLTÀ DI MEDICINA VETERINARIA**
*TEACHER, ADMINISTRATIVE AND TECHNICAL STAFF OF THE
FACULTY OF VETERINARY MEDICINE*

PRESIDENZA FACOLTÀ

SIG.RA BERTOLI BARBARA	PERSONALE NON DOCENTE
DOTT.SSA MIDURI FRANCESCA	PERSONALE NON DOCENTE
SIG.RA ROSSETTI ELISA	PERSONALE NON DOCENTE

SERVIZIO SEGRETERIA STUDENTI

SIG.RA GROSSARDI CRISTINA	PERSONALE NON DOCENTE
SIG. TRINITATO PALMERINO	PERSONALE NON DOCENTE

SERVIZIO BIBLIOTECA

RAG. AMPOLLINI ANGELO	PERSONALE NON DOCENTE
DOTT.SSA OLIVIERI GIOVANNA	PERSONALE NON DOCENTE
DOTT.SSA SORENTI MARIANGELA	PERSONALE NON DOCENTE

**DIPARTIMENTO DI PRODUZIONI ANIMALI, BIOTECNOLOGIE
VETERINARIE, QUALITÀ E SICUREZZA DEGLI ALIMENTI**

PERSONALE NON DOCENTE

SIG.RA AMPOLLINI COSTANZA	PERSONALE NON DOCENTE
SIG.RA BRANCA GIULIA	PERSONALE NON DOCENTE
SIG.RA CAMPESATO ELISABETTA	PERSONALE NON DOCENTE
DOTT.SSA CAVALLI VALERIA	PERSONALE NON DOCENTE
SIG.RA CONTI VIRNA	PERSONALE NON DOCENTE
SIG. DAMASCHI CESARE	PERSONALE NON DOCENTE
DOTT.SSA DRAMIS MARIA	PERSONALE NON DOCENTE
SIG. FAROLDI LUIGI	PERSONALE NON DOCENTE
DOTT. FORMAGGIONI PAOLO	PERSONALE NON DOCENTE
RAG. NINIMOSI CLARA	PERSONALE NON DOCENTE
DOTT. RENZI MARCO	PERSONALE NON DOCENTE
SIG.RA TRANCOSSI MARIANGELA	PERSONALE NON DOCENTE
DOTT. ZAMBINI ERNESTO MARIO	PERSONALE NON DOCENTE

SEZIONE DI BIOCHIMICA VETERINARIA

PROF. GROLLI STEFANO	RICERCATORE UNIVERSITARIO
PROF. RAMONI ROBERTO	PROFESSORE ASSOCIATO

SEZIONE DI FISIOLOGIA VETERINARIA

PROF.SSA BASINI GIUSEPPINA	PROFESSORE ASSOCIATO
PROF.SSA GRASSELLI FRANCESCA	PROFESSORE ASSOCIATO
PROF.SSA SALERI ROBERTA	RICERCATORE UNIVERSITARIO

SEZIONE DI INFORMATICA E BIOMATEMATICA

PROF. BRACCHI GIOVANNI	PROFESSORE ASSOCIATO
------------------------	----------------------

SEZIONE DI SCIENZA DEGLI ALIMENTI E DELLA NUTRIZIONE

PROF. QUARANTELLI AFRO	PROFESSORE ORDINARIO
PROF. RIGHI FEDERICO	RICERCATORE UNIVERSITARIO
PROF.SSA SUPERCHI PAOLA	PROFESSORE ORDINARIO
PROF. BIGNETTI ENRICO	PROFESSORE ASSOCIATO (afferenza in via di definizione)

SEZIONE DI SCIENZE E TECNOLOGIE LATTIERO CASEARIE

PROF. MALACARNE MASSIMO	RICERCATORE UNIVERSITARIO
PROF. MARIANI PRIMO	PROFESSORE ORDINARIO (IN QUIESCENZA DAL 01-11-2011)
PROF. SUMMER ANDREA	PROFESSORE ASSOCIATO

SEZIONE DI SCIENZE ZOOTECNICHE E QUALITÀ DELLE PRODUZIONI ANIMALI

PROF. MARTUZZI FRANCESCA	PROFESSORE ASSOCIATO
PROF. SABBIONI ALBERTO	PROFESSORE ASSOCIATO

SEZIONE DI ANATOMIA DEGLI ANIMALI DI INTERESSE MEDICO VETERINARIO

PROF.SSA BO LUISA	PROFESSORE ASSOCIATO
PROF.SSA BOTTI MADDALENA	RICERCATORE UNIVERSITARIO
PROF. CACCHIOLI ANTONIO	RICERCATORE UNIVERSITARIO
PROF. GAZZA FERDINANDO	PROFESSORE ASSOCIATO
PROF. PANU RINO	PROFESSORE ORDINARIO
PROF.SSA RAGIONIERI LUISA	RICERCATORE UNIVERSITARIO

SEZIONE DI CLINICA CHIRURGICA VETERINARIA E MEDICINA D'URGENZA

PROF. MARTINI FILIPPO MARIA	PROFESSORE ASSOCIATO
PROF.SSA SIMONAZZI BARBARA	RICERCATORE UNIVERSITARIO
PROF. ZANICHELLI STEFANO	PROFESSORE ORDINARIO

SEZIONE DI CLINICA MEDICA VETERINARIA

PROF. BIANCHI EZIO	RICERCATORE UNIVERSITARIO
PROF. DONDI MAURIZIO	PROFESSORE ASSOCIATO
PROF. MARTELLI PAOLO	PROFESSORE ORDINARIO
PROF.SSA QUINTAVALLA CECILIA	PROFESSORE ASSOCIATO
PROF. QUINTAVALLA FAUSTO	PROFESSORE ORDINARIO

SEZIONE DI CLINICA OSTETRICA E RIPRODUZIONE ANIMALE

PROF. BIGLIARDI ENRICO	PROFESSORE ASSOCIATO
PROF. MORINI GIORGIO	RICERCATORE UNIVERSITARIO
PROF. PARMIGIANI ENRICO	PROFESSORE ORDINARIO

SEZIONE DI DIAGNOSTICA E TOSSICOLOGIA SPERIMENTALE

PROF. UBALDI ANTONIO	PROFESSORE ORDINARIO
----------------------	----------------------

SEZIONE DI ENDOCRINOLOGIA E FARMACOLOGIA VETERINARIA

PROF. BERTINI SIMONE	PROFESSORE ASSOCIATO
PROF. DE RENSIS FABIO	PROFESSORE ORDINARIO
PROF. MENOZZI ALESSANDRO	RICERCATORE UNIVERSITARIO

SEZIONE DI MICROBIOLOGIA ED IMMUNOLOGIA VETERINARIA

PROF.SSA OSSIPRANDI MARIA CRISTINA PROFESSORE ASSOCIATO

SEZIONE DI PATOLOGIA GENERALE ED ANATOMIA PATOLOGICA

PROF. BORGHETTI PAOLO	PROFESSORE ORDINARIO
PROF.SSA CANTONI ANNA MARIA	PROFESSORE ASSOCIATO
PROF. CORRADI ATILIO	PROFESSORE ORDINARIO
PROF.SSA DI LECCE ROSANNA	RICERCATORE UNIVERSITARIO
PROF.SSA PASSERI BENEDETTA	RICERCATORE UNIVERSITARIO

SEZIONE DI RISORSE DEL TERRITORIO

PROF. BONAZZI GIUSEPPE	PROFESSORE ASSOCIATO
PROF. SALGHETTI ANDREA	PROFESSORE ASSOCIATO

SEZIONE ISPEZIONE DEGLI ALIMENTI DI ORIGINE ANIMALE

PROF. BENTLEY STEFANO	RICERCATORE UNIVERSITARIO
PROF.SSA BONARDI SILVIA	PROFESSORE ASSOCIATO
PROF. BRINDANI FRANCO	PROFESSORE ORDINARIO

SEZIONE MALATTIE INFETTIVE DEGLI ANIMALI

PROF.SSA CABASSI CLOTILDE SILVIA	PROFESSORE ASSOCIATO
PROF. CAVIRANI SANDRO	PROFESSORE ORDINARIO
PROF. DONOFRIO GAETANO	PROFESSORE ASSOCIATO
PROF. TADDEI SIMONE	RICERCATORE UNIVERSITARIO

SEZIONE DI PARASSITOLOGIA E MALATTIE PARASSITARIE

PROF. GRANDI GIULIO	RICERCATORE UNIVERSITARIO
PROF.SSA KRAMER LAURA HELEN	PROFESSORE ASSOCIATO

**AFFERENZE DEL PERSONALE DOCENTE
AI DIPARTIMENTI E SERVIZI DELLA FACOLTÀ**
*TEACHER AFFERENCES FACULTY DEPARTMENTS
AND FACULTY SERVICES*

Presidenza

www.unipr.it/Facoltà/Veterinaria
Via del Taglio, 8 – 43100 Parma
Tel. Presidenza 0521.032600 – 032601
Fax 0521.032602
E-mail: vetpres@unipr.it
Preside: Prof. CORRADI Attilio

Biblioteca Generale

Tel. 0521.032656 – Fax 0521.032737
E-mail: bibvet@unipr.it
Direttore: Prof. QUINTAVALLA Fausto

Segreteria Studenti

Tel. 0521.032604-05-06 – Fax. 0521.032606

Dipartimento di Salute Animale

Tel. 0521.032641 – Fax 0521.032642
E-mail: dipsa@unipr.it
Direttore . Prof. Cavirani Sandro

***Sezione di anatomia degli animali di
Interesse Medico Veterinario**

Tel.0521.032641 – Fax. 0521.032642
E-mail:animdome@unipr.it
Coordinatore: Prof. PANU Rino

Docenti:

Prof.ssa BO Luisa
Tel. 0521.032637
E-mail: luisa.bo@unipr.it
Prof. GAZZA Ferdinando
Tel. 0521.032641 – 0521.032631
E-mail: ferdinando.gazza@unipr.it
Prof. PANU Rino
Tel. 0521.032647
E-mail: rino.panu@unipr.it

Ricercatori:

Dott. BOTTI Maddalena
Tel. 0521.032639
E-mail: maddalena.botti@unipr.it
Dott. CACCHIOLI Antonio
Tel. 0521.032648
E-mail: antonio.cacchioni@unipr.it
Dott.ssa RAGIONIERI Luisa

Tel. 0521.032641 – 0521.032639

E-mail: luisa.ragionieri@unipr.it

***Sezione di Patologia Generale e
Anatomia Patologica**

Tel. 0521.032731 – Fax 0521.032732

E-mail: apvet@unipr.it

Coordinatore: Prof. CORRADI Attilio

Docenti:

Prof. BORGHETTI Paolo

Tel. 0521.032725

E-mail: paolo.borghetti@unipr.it

Prof.ssa CANTONI Annamaria

Tel. 0521.032726

E-mail: annamaria.cantoni@unipr.it

Prof. CORRADI Attilio

Tel. 0521.032725

E-mail: attilio.corradi@unipr.it

Ricercatori:

Dott.ssa DI LECCE Rosanna

Tel. 0521.032726

E-mail: rosanna.dilecce@unipr.it

Dott.ssa PASSERI Benedetta

Tel. 0521.032726

E-mail: benedetta.passeri@unipr.it

***Sezione di Clinica Chirurgica
Veterinaria e Medicina d'Urgenza**

Tel. 0521.032781 – Fax 0521.032782

E-mail: chirvet@unipr.it

Coordinatore: Prof. ZANICHELLI Stefano

Docenti:

Prof. ZANICHELLI Stefano

E-mail: stefano.zanicelli@unipr.it

Tel. 0521.032786

Prof. MARTINI Filippo Maria

E-mail: filippomaria.martini@unipr.it

Tel. 0521.032785

Ricercatori:

Dott.ssa SIMONAZZI Barbara

E-mail: barbara.simonazzi@unipr.it

Tel. 0521.032781

***Sezione di Clinica Medica Veterinaria**

Tel. 0521.032691 – Fax 0521.032692

Coordinatore: Prof. MARTELLI Paolo

E-mail: paolo.martelli@unipr.it

Docenti:

Prof. DONDI Maurizio

Tel. 0521.032696

E-mail: maurizio.dondi@unipr.it

Prof. MARTELLI Paolo

Tel. 0521.032689

E-mail: paolo.martelli@unipr.it

Prof.ssa QUINTAVALLA Cecilia

Tel. 0521.032694

E-mail: cecilia.quintavalla@unipr.it

Prof. QUINTAVALLA Fausto

Tel. 0521.032688

E-mail: fausto.quintavalla@unipr.it

Ricercatori:

Dott. BIANCHI Ezio

Tel. 0521.032696

E-mail: ezio.bianchi@unipr.it

***Sezione di Clinica Ostetrica e**

Riproduzione Animale

Tel. 0521.032661 – Fax. 0521.032662

Coordinatore: Prof. PARMIGIANI Enrico

Docenti:

Prof. PARMIGIANI Enrico

Tel. 0521.032660

E-mail: enrico.parmigiani@unipr.it

Prof. BIGLIARDI Enrico

Tel. 0521.032663

E-mail: enrico.bigliardi@unipr.it

Ricercatori:

Dott. MORINI Giorgio

Tel. 0521.032674

E-mail: giorgio.morini@unipr.it

***Sezione di Diagnostica e Tossicologia**

Sperimentale

Tel. 0521.032765 – Fax. 0521.032772

Coordinatore: Prof. UBALDI Antonio

Docente:

Prof. UBALDI Antonio

Tel. 0521.032763

E-mail: antonio.ubaldi@unipr.it

***Sezione di Endocrinologia e
Farmacologia Veterinaria**

Tel. 0521.032608 – Fax. 0521.032800

Coordinatore: Prof. DE RENSIS Fabio

Docenti:

Prof. BERTINI Simone

Tel. 0521.032608

E-mail: simone.bertini@unipr.it

Prof. DE RENSIS Fabio

Tel. 0521.032608

E-mail : fabio.derensis@unipr.it

Ricercatori :

Dott. MENOZZI Alessandro

Tel. 0521.032797

E-mail: alessandro.menzozi@unipr.it

***Sezione di Ispezione degli Alimenti di
Origine Animale**

Tel. 0521.032741 – Fax. 0521.032742

Coordinatore: Prof. BRINDANI Franco

Tel. 0521.032743

Docente:

Prof. BRINDANI Franco

Tel. 0521.032743

E-mail: franco.brindani@unipr.it

Prof.ssa BONARDI Silvia

Tel. 0521.032744

E-mail: silvia.bonardi@unipr.it

Ricercatori:

Dott. BENTLEY Stefano

Tel. 0521.032745

E-mail: stefano.bentley@unipr.it

***Sezione di Malattie Infettive degli
Animali**

Tel. 0521.032671 – Fax. 0521.032672

E-mail: malinvet@unipr.it

Coordinatore: Prof. CAVIRANI Sandro

Tel. 0521.032743

Docenti:

Prof. CAVIRANI Sandro

Tel. 0521.032667

E-mail: sandro.cavirani@unipr.it

Prof. FLAMMINI Cesidio Filippo (in
quiescenza dal 01/11/2010)

Tel. 0521.032680

E-mail: cesidiofilippo.flamini@unipr.it

Prof. CABASSI Clotilde Silvia

Tel. 0521.032669

E-mail: silvia.cabassi@unipr.it

Prof. DONOFRIO Gaetano
Tel. 0521.032669
E-mail: gaetano.donofrio@unipr.it

Ricercatori:

Dott. TADDEI Simone
Tel. 0521.032671
E-mail: simone.taddei@unipr.it

***Sezione di Microbiologia e Immunologia
Veterinaria**

Tel. 0521.032721 – Fax. 0521.032721
Coordinatore: Prof.ssa OSSIPRANDI
M.Cristina

Docenti:

Prof.ssa OSSIPRANDI M. Cristina
Tel. 0521.032718
E-mail: mariacristina.ossiprandi@unipr.it

***Sezione di Radiologia e Diagnostica per
Immagini**

Tel. 0521.032791 – Fax. 0521.032792
Coordinatore: Prof. GNUDI Giacomo

Docenti:

Prof. GNUDI Giacomo
Tel. 0521.032789
E-mail: giacomo.gnudi@unipr.it

Ricercatori:

Dott. VOLTA Antonella
Tel. 0521.032789
E-mail: antonella.volta@unipr.it

***Sezione di Risorse del Territorio**

Tel. 0521.032709 – Fax. 0521.032708
Coordinatore: Prof. SALGHETTI Andrea

Docenti:

Prof. SALGHETTI Andrea
Tel. 0521.032713
E-mail: andrea.salghetti@unipr.it

Prof. BONAZZI Giuseppe

Tel. 0521.032707

E-mail: giuseppe.bonazzi@unipr.it

**Dipartimento di Produzioni Animali,
Biotecnologie Veterinarie, Qualità e
Sicurezza degli Alimenti**

Tel. 0521.032607 – Fax. 0521.032752

E-mail: dipabqsa@unipr.it

Direttore: Prof. QUARANTELLI Afro

***Sezione di Biochimica Veterinaria**

Tel. 0521.032768 – Fax. 0521.032772

E-mail: vetbioc@unipr.it

Coordinatore: Prof. RAMONI Roberto

Docenti:

Prof. RAMONI Roberto

Tel. 0521.032767

E-mail: roberto.ramoni@unipr.it

Ricercatori:

Dott. GROLLI Stefano

Tel. 0521.032767

E-mail: stefano.grolli@unipr.it

***Sezione di Parassitologia e Malattie
parassitarie degli animali domestici**

Tel. 0521.032715

Docente:

Prof. KRAMER Laura Helen

Tel. 0521.032715

E-mail: laurahelen.kramer@unipr.it

Ricercatori:

Dott. GRANDI Giulio

Tel. 0521.032776

E-mail: giulio.grandi@unipr.it

***Sezione di Fisiologia Veterinaria**

Tel. 0521.032771 – Fax. 0521.032770

E-mail: vetfizio@unipr.it

Coordinatore: Prof. GRASSELLI

Francesca

Docenti:

Prof. GRASSELLI Francesca

Tel. 0521.032773

E-mail: francesca.grasselli@unipr.it

Prof. BASINI Giuseppina

Tel. 0521.032775

E-mail: giuseppina.basini@unipr.it

Ricercatori:

Dott.ssa SALERI Roberta

Tel. 0521.032774

E-mail: roberta.saleri@unipr.it

***Sezione di Informatica e Biomatematica**

Tel. 0521.032714 – Fax. 0521.032715

Coordinatore: Prof. BRACCHI Pier

Giovanni

Docenti:

Prof. BRACCHI Pier Giovanni

Tel. 0521.032716

E-mail: piergiovanni.bracchi@unipr.it

***Sezione di Sicurezza degli Alimenti**

Tel. 0521.032751 – Fax. 0521.032752

E-mail: ispalim2@unipr.it

Coordinatore: Prof.ssa IANIERI Adriana

Docenti:

Prof.ssa IANIERI Adriana

Tel. 0521.032750

E-mail: adriana.ianieri@unipr.it

Ricercatori:

Prof. GHIDINI Sergio

Tel. 0521.032761

E-mail: sergio.ghidini@unipr.it

Dott.ssa ZANARDI Emanuela

Tel. 0521.032761

E-mail: emanuela.zanardi@unipr.it

***Sezione di Scienza degli Alimenti e della Nutrizione**

Tel. 0521.032621 – Fax. 0521.032622

E-mail: zootec@unipr.it

Coordinatore: Prof. QUARANTELLI Afro

Docenti:

Prof. QUARANTELLI Afro

Tel. 0521.032624

E-mail: afro.quarantelli@unipr.it

Prof.ssa SUPERCHI Paola

Tel. 0521.032618

E-mail: paola.superchi@unipr.it

Ricercatori:

Dott. RIGHI Federico

Tel. 0521.032624

E-mail: federico.righi@unipr.it

***Sezione di Scienza e Tecnologie Lattiero Casearie**

Coordinatore: Prof. SUMMER Andrea

Tel. 0521.032614

Docenti:

Prof. SUMMER Andrea

Tel. 0521.032613

E-mail: andrea.summer@unipr.it

Prof. MALACARNE Massimo

Tel. 0521 032615

E-mail : massimo.malacarne@unipr.it

***Sezione di Scienze Zootecniche e Qualità delle Produzioni Animali**

Tel. 0521.032621 – Fax. 0521.032611

E-mail: zootec@unipr.it

Coordinatore: Prof. Sabbioni Alberto

Docenti:

Prof.ssa MARTUZZI Francesca

Tel. 0521.032616

E-mail: francesca.martuzzi@unipr.it

Prof. SABBIONI Alberto

Tel. 0521.032625

E-mail: alberto.sabbioni@unipr.it

Scuole di Specializzazione

Ispezione degli Alimenti di Origine Animale

Direttore: Prof. BRINDANI Franco

- Sezione di Ispezione degli Alimenti di Origine Animale

Tel. 0521.032743

E.mail: franco.brindani@unipr.it

Patologia suina (triennale)

Direttore: Prof. CORRADI Attilio

- Sezione di Patologia Generale e Anatomia patologica

Tel. 0521.032730

E.mail: attilio.corradi@unipr.it

Sanita' Animale. Allevamento e produzioni Zootecniche (triennale)

Direttore: Prof.ssa. OSSIPRANDI Maria Cristina

- Sezione di Microbiologia ed Immunologia Veterinaria

Tel. 0521.032718

MOLECULAR TOXINOTYPING OF *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS* AND *CLOSTRIDIUM DIFFICILE* CATTLE AND SWINE ISOLATES BY PCR ASSAYS

TIPIZZAZIONE MOLECOLARE MEDIANTE PCR DI CEPPI BOVINI E SUINI DI *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS* E *CLOSTRIDIUM DIFFICILE*

Zerbini Laura, Ossiprandi Maria Cristina¹

Structured Summary

Objectives

Clostridium perfringens and *C. difficile* are common causes of enteritis and enterotoxaemia in humans and domestic and wild animals. The purpose of this study was to investigate the enterotoxigenic profile of cattle and swine isolates by PCRs.

Methods

One hundred and nineteen bovine (faecal and intestine) samples and one hundred and ten swine faeces were analyzed by culture assay. All *C. perfringens* isolates were screened for the characterization of the toxinotype. *C. difficile* strains were PCR-tested for the presence of *tcdA/tcdB* and *cdtA/cdtB* genes.

Results

Overall, 53 bovine samples tested positive: 37 for *C. perfringens* and 16 for *C. difficile*. In two *C. perfringens*-positive diarrhoeic samples, *C. difficile* was also isolated. All *C. perfringens* isolates were type A; *C. difficile* strains resulted *tcdA/tcdB* and *cdtA/cdtB*-negative.

Sixty-five swine resulted positive: 17 for *C. perfringens* and 38 for *C. difficile*. All *C. perfringens* isolates were type A; eight were also *cpb2*-positive. All *C. difficile* strains resulted *tcdA/tcdB* and *cdtA/cdtB*-negative. In one *C. perfringens cpb2*-positive diarrhoeic sample *C. difficile* (*tcdA/tcdB* and *cdtA/*

¹ Department of Veterinary Medical Sciences, Section of Veterinary Microbiology and Immunology, Faculty of Veterinary Medicine - University of Parma, Via del Taglio n° 10 - 43126 Parma - Italy
Sezione di Microbiologia ed Immunologia Veterinaria
Dipartimento di Scienze Medico Veterinarie, Facoltà di Medicina Veterinaria - Università degli Studi di Parma, Via del Taglio n° 10 - 43126 Parma - Italy, Tel. 0521/032718
E-mail: mariacristina.ossiprandi@unipr.it

cdtB-positive) was also isolated.

Clinical Significance

Understanding the diversity of toxigenic strains may lead to a greater understanding of the pathogenesis in cattle and swine and help in the development of effective intervention methods for controlling clostridial disease outbreaks.

Keywords: *Clostridium perfringens*, *Clostridium difficile*, toxinotyping, PCR assays

INTRODUCTION

Over the past decade *Clostridium difficile* has emerged as an important enteric pathogen in human (Song *et al* 2008) and veterinary medicine (Keel and Songer 2006). *Clostridium perfringens* has been associated with enterocolitis in animals, including horses and humans (Songer 1996; Waggett *et al* 2010). *Clostridium perfringens* is commonly found in the environment and in the gastrointestinal tract of a variety of mammals and birds where it is considered a part of the normal bacterial flora (Songer 1996; Van Immerseel *et al* 2004). It is also recognized as an important pathogen in domestic animals, wildlife, and humans. *C. perfringens* can cause gas gangrene and food poisoning in humans; necrotic enteritis in poultry; enterotoxaemia in lambs and calves; and enteritis in pigs, cattle, dogs, and horses (Songer 1996; Petit *et al* 1999; Slavić *et al* 2011).

Clostridium perfringens is a Gram-positive, anaerobic, oxygen-tolerant, rod-shaped bacterium. Like all bacterial species, *C. perfringens* can be subdivided into strains according to the results of different typing methods. Although subdivision by serotyping was proposed in the past, division into strains according to the combinations of toxins produced (or toxinotypes) is still the most widespread and routinely useful method today. Genotyping is generally used only in PCR analysis of toxin genotype (Lebrun *et al* 2010). *C. perfringens* can produce up to 30 potential toxins, and strains are traditionally classified into five categories (A, B, C, D and E) according to the combination of the four major toxins (α , β , ι ed ϵ) they produce (Table 1) (Lebrun *et al* 2010). These five types can be further subdivided according to the production of two additional toxins: the enterotoxin (encoded by the *cpe* gene) and the β 2 toxin (encoded by the *cpb2* gene) and numerous so-called minor toxins (Table 1) (Lebrun *et al* 2010).

Table 1: *Clostridium perfringens* conventional toxinotypes

Toxin	Type A	Type B	Type C	Type D	Type E
α	X	X	X	X	X
β		X	X		
ϵ		X		X	
ι					X
Enterotoxin	(x)				(x)
β_2	(x)	(x)	(x)	(x)	(x)

X: Classic

(x): Potential

From: Lebrun M., Mainil J.G., Linden A. (2010): Cattle enterotoxaemia and *Clostridium perfringens*: description, diagnosis and prophylaxis. *Veterinary Record* 167, 13-22

Type A strains cause most pathologies associated with *C. perfringens* in human beings: gas gangrene (type A, non-enterotoxigenic), sporadic or antibiotic-associated diarrhoea (type A, \pm enterotoxigenic, \pm *cpb2*) and food poisoning (type A or D, enterotoxigenic) (Lebrun *et al* 2010). Necrotising enteritis (type C) is also seen in human beings (Kreft *et al* 2000). In animals, the five toxinotypes cause numerous forms of enteritis and enterotoxaemia (Lebrun *et al* 2010).

Type A strains are associated with diarrhoea, dysentery and enterotoxaemia in ruminants, pigs, horses and poultry (Lebrun *et al* 2010). The role of the α toxin in enteritis and enterotoxaemia awaits full experimental confirmation: the α toxin has not yet been shown to be present in the bloodstream of mammals in non-experimental infections, experimental trials to reproduce enterotoxaemia in mammals using the α toxin failed, and although clinical signs of necrotic enteritis can be reproduced in poultry (Lebrun *et al* 2010), more recent work with mutant strains has questioned the supposed role of the α toxin and implicated the more recently discovered NetB toxin in this pathology (Lebrun *et al* 2010). Type B and C strains cause most episodes of dysentery and enterotoxaemia with necrotic or haemorrhagic enteritis, and type D strains cause enterotoxemia also known as overeating or the pulpy kidney disease in sheep, and perhaps in calves in which no necrotic or haemorrhagic intestinal lesions are present (Lebrun *et al* 2010). The major

β and ϵ toxins have been shown to play a role in these syndromes, and prevention by vaccination with toxoids is effective, at least in small ruminants (Lebrun *et al* 2010). The role and importance of *C. perfringens* type E (ι toxin) is still unclear, but type E strains appear to cause enteritis in sheep and goats in the Middle East and in calves in North America (Lebrun *et al* 2010).

Regardless of the type, *C. perfringens* isolates can also produce β_2 -toxin and enterotoxin (CPE). The β_2 -toxin has been associated with the onset of enteritis in pigs, horses, and cattle, and appears to have similar, but weaker, biological activity as the β -toxin (Schotte *et al* 2004). Enterotoxin has been associated with diarrhoeal disease in some animal species pigs, cats and dogs and, more importantly, with food poisoning in humans (Songer 1996; Lahti *et al* 2008; Slavić *et al* 2011).

Clostridium difficile is a Gram-positive, anaerobic, bacterium forming environmentally hardy spores.

Enteric infection caused by *C. difficile* has emerged as a common diagnosis in neonatal pigs in recent years. This pathogen is known to cause disease in a variety of other animals, including calves, lambs, dogs, and horses. *C. difficile* has also been associated with hospitalization and antibiotic use in humans, and recently there have been epidemic outbreaks of *C. difficile*-infection (CDI) due to the emergence of a hypervirulent strain in hospitals worldwide. This strain is a toxinotype III (ribotype 027) strain, contains the binary toxin (CDT, adenosine diphosphate-ribosyltransferase), and has an 18-bp deletion in the *tcdC* regulatory gene (Baker *et al* 2010).

Lesions in non-human mammals are similar to those in humans, but vary widely in severity and distribution within the gastrointestinal tract. This variation is evident for different species and different age groups within a species (Keel and Songer 2006).

Clinical signs and lesions may be mild, as in porcine neonatal colitis, but range to elevated leukocyte count, abdominal pain, profuse watery diarrhoea, anorexia, lethargy, and death in humans. Collective pathology is comprised of pseudomembrane formation, inflammation, necrosis, and an intercryptal exudate of neutrophils and fibrin (“volcano lesions”) (Songer *et al* 2000; Hammitt *et al* 2008). Diarrhoea is variably present and some pigs with mild disease are apparently obstipated. Other clinical signs of disease include dyspnea, mild abdominal distension, and scrotal edema (Keel and Songer 2006). More than 50% of preweaning deaths in intensively raised calves may be due to diarrheal disease (Hammitt *et al* 2008).

The pathophysiology of CDI involves colonization of the intestinal tract with *C. difficile* and production of specific toxins (Rodriguez-Palacios *et al* 2006).

Virulent strains of *C. difficile* are associated with two toxins: the enterotoxin TcdA (toxin A) and the cytotoxin TcdB (toxin B) (Baker *et al* 2010).

TcdA and TcdB are encoded by two distinct separate genes, *tcdA* and *tcdB*, located in a 19.6-kb pathogenicity locus (PaLoc). The expression of these two genes is regulated by a putative negative regulator within PaLoc, the *tcdC* gene. Deletions in *tcdC* are believed to result in an overexpression of *tcdA* and *tcdB*, which may account for the apparent higher pathogenicity in certain ribotypes (i.e., PCR type 027 and 078) (Songer *et al* 2000). Some strains also produce binary toxin, as above mentioned, which is encoded by the genes *cdtA* and *cdtB*, located outside PaLoc. The real role of binary toxin in disease is currently under investigation (Rodriguez-Palacios *et al* 2006).

Several techniques have been used to type *C. perfringens* and *C. difficile* in both humans and animal species (Baker *et al* 2010).

The common typing methods include multilocus sequence typing (MLST), pulsed-field gel electrophoresis (PFGE), random amplified polymorphic DNA (RAPD) typing, PCR ribotyping, and toxinotyping (Baker *et al* 2010). Generally, these methods have been used to type *C. perfringens* in attempts to differentiate pathogenic strains from commensals and to type *C. difficile* as an epidemiology tool to identify clusters or strains associated with disease outbreaks. Understanding the diversity of toxigenic strains in cattle and in commercial swine herds may lead to a greater understanding of the pathogenesis of *Clostridium* in bovine and neonatal pigs and help in the development of effective intervention methods for controlling clostridial disease outbreaks (Baker *et al* 2010).

Therefore, the focus of this study was to investigate the molecular characteristics of various strains of *C. perfringens* and *C. difficile* isolated from healthy and diarrhoeic cattle and swine through the use of toxin gene profiling.

MATERIALS AND METHODS

Samples. One hundred and nineteen bovine specimens (108 faeces and 11 intestines, belonging to 115 cattle animals) and one hundred and ten swine samples (all faeces) were collected, using a stratified random sampling, from different farms in the area of Parma and Reggio Emilia provinces (Italy) starting in 2008 and ending in 2011.

Fifty-nine bovine faeces belonged to non-diarrhoeic animals (23 dairy cows, 19 pregnant heifers, 13 heifers and 4 calves); sixty faecal and intestine bovine samples belonged to 56 diarrhoeic subjects (34 calves, 18 cows and 4 heifers): at the same time, it was possible to analyze faecal and intestine specimens for 1 cow and for 3 calves.

The swine samples were from sixty-seven healthy animals and 43 with gastrointestinal tract disease.

Assays were performed on faecal/intestine specimens within 3 hours from the collection. After analysis, samples were immediately stored at -20°C.

Faecal and intestine sample culture. All faecal and intestinal samples were cultured onto pre-reduced Schaedler agar plates (Oxoid, Basingstoke, Hampshire, England), and at the same time inoculated into Cooked Meat broth (Oxoid, England). Samples were also streaked onto pre-reduced selective medium containing cycloserine-cefoxitin-fructose agar (CCFA) for *C. difficile* isolation. Plates were incubated anaerobically at 37°C for 48-72 hours. After 3 days of incubation into cooked meat broth, the samples were subjected to heat shock for spore selection at 100°C for 5 min., followed by subculture onto Schaedler agar and/or CCFA plates.

Isolates which were anaerobic, Gram-positive, rod-shaped, and produced a double zone of haemolysis on blood were, preliminarily, considered to be *C. perfringens*. Reverse Christie-Atkins-Munch-Peterson (CAMP) testing (Buchanan 1982) was performed on colonies accompanied by positive controls (*Streptococcus agalactiae* ATCC 27956 and *C. perfringens* internal control of Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna - Sezione di Parma, Italy).

Preliminary identification of *C. difficile* was based on colony morphology, odor (horse manure), lack of aerotolerance and cellular morphology following Gram staining. Species identity was confirmed through the rapid latex slide agglutination test (*C. difficile*, Oxoid, England) and Rapid ID32A (bio-Mérieux SA, Marcy-l'Etoile, France).

All isolates were stored on cryopreservation beads (MAST Diagnostics, D.I.D, Diagnostic International Distribution S.p.A., Italy) at -70°C.

Reference strains for PCRs. *C. perfringens* ATCC 12917 *cpa*⁺/*cpe*⁺ was utilized as positive control for duplex and multiplex PCRs. *C. perfringens* NCTC 8346, CN 5383, and ATCC 27324 were used as *cpa*⁺/*etx*⁺, *cpa*⁺/*cpb*⁺/*cpb2*⁺ and *cpa*⁺/*iap*⁺/*cpe*⁺/*cpb2*⁺ controls, respectively, for multiplex PCR. *C. difficile* VPI 10463 and 51377 were used as *C. difficile* *tcdA*⁺/*tcdB*⁺ and *cdtA*⁺/*cdtB*⁺ controls, respectively.

Rapid immunoassays. The, *in vitro*, toxin production by *C. difficile* was detected by two distinct immunological tests (ProSpecT *Clostridium difficile* Toxin A/B, Remel, USA, and *C. diff* Quik Chek Complete™, TechLab, Princeton, USA) on isolate following 3 and 5 days of anaerobic growth into cooked meat broth. *C. difficile* VPI 10463 was used as TcdA+/TcdB+ positive control.

Extraction of *C. perfringens* and *C. difficile* DNA. For each *C. perfringens* or *C. difficile* strain, a 100 µl suspension of cells in sterile water was vortexed, incubated at 100°C for 5 and 10 min., respectively, and centrifuged at 12,000 g (Microliter Centrifuge, Hermle Z 233 M-2, Delchimica Scientific Glassware s.r.l.) for 2 min. Five µl of this preparation were used as the DNA template for all PCR assays. All PCRs were performed with a Techne TC-32 thermal cycler (Barloworld Scientific Ltd, Milano, Italy).

Duplex PCR for the *C. perfringens* phospholipase C (PLC) and CPE encoding genes. All *C. perfringens* isolates and the ATCC 12917 reference strain were PCR-screened for the presence of PLC and CPE-encoding genes as previously described by Fach and Popoff (1997). Amplified products were subjected to 1.5% agarose gel electrophoresis (120 V, 1 h) and visualized by ethidium bromide staining and ultraviolet light exposure.

Multiplex PCR for the *C. perfringens* toxins encoding genes. All *C. perfringens* isolates, along with the four reference strains, were PCR-subjected for the detection of α (*cpa*), β (*cpb*), ϵ (*etx*), CPE (*cpe*), ι (*iap*), and $\beta 2$ (*cpb2*) toxin encoding genes, as described by Baums *et al.* (2004). The reaction products were subjected to agarose gel electrophoresis as above mentioned.

Duplex PCRs for the *C. difficile* TcdA/B and binary toxin encoding genes. All *C. difficile* isolates and the reference strains were PCR-screened for the presence of (a) TcdA/B-encoding genes (624-bp *tcdA* and 412-bp *tcdB* gene fragments), as previously described by Spigaglia and Mastrantonio (2002), and (b) binary toxin genes (375-bp *cdtA* and 510-bp *cdtB* gene fragments), as described by Stubbs *et al.* (2000). The reaction products were subjected to agarose gel electrophoresis as above.

RESULTS

Overall, 53 of the 119 bovine samples (44.5%) tested positive by culture assay: 37 for *C. perfringens* (31.1%) and 16 for *C. difficile* (13.4%). In two *C. perfringens*-positive samples, belonging to calves, *C. difficile* was also isolated: on the whole, 18 *C. difficile* strains (15.1%). In one cow and three calves,

C. perfringens was isolated from the faecal and the intestine sample; in one calf, it was isolated from the intestine specimen. All *C. perfringens*-positive specimens (32 faeces and 5 intestines) belonged to 33 diarrhoeic animals (23 calves, 8 cows and 2 heifers).

Twenty-seven (23 faeces and 4 intestine) of the 37 *C. perfringens*-positive isolates (73.0%) were from calves. In particular, 67.6% of diarrhoeic calves (n=23 of 34) yielded isolates of *C. perfringens*.

All *C. perfringens* isolates resulted type A. None of the 37 *C. perfringens* strains were enterotoxin-positive (*plc*+/*cpe*-) by duplex PCR. This result was confirmed by multiplex PCR assay (*cpa*+/*cpe*-), where other toxin genes weren't revealed.

Out of the 18 *C. difficile* isolates, 11 (61.1%) belonged to non-diarrhoeic dairy cows, 4 (22.2%) to diarrhoeic calves and 3 (16.7%) to diarrhoeic cows. All 18 *C. difficile* strains resulted *tcdA/tcdB* and *cdtA/cdtB*-negative by PCRs. Concerning the swine specimens, 65 of the 110 (59.1%) resulted positive: 17 for *C. perfringens* (15.4%) and 38 for *C. difficile*. One faecal sample tested *C. perfringens* and *C. difficile*-positive, at the same time: on the whole, 39 *C. difficile* isolates (35.4%). Out of the 17 *C. perfringens* strains, 10 (58.8%) were from diarrhoeic swine. All *C. perfringens* isolates were type A; eight of them (47.1%), belonging to diarrhoeic animals, were also *cpb2*-positive by multiplex PCR (Figure 1).

Thirty-eight *C. difficile*-positive samples belonged to healthy swine and the *C. difficile* strains resulted *tcdA/tcdB* and *cdtA/cdtB*-negative by PCRs. On the contrary, the *C. difficile* strain isolated, at the same time, from a *C. perfringens* *cpb2*-positive diarrhoeic sample was *tcdA/tcdB*- (Figure 2) and *cdtA/cdtB*-positive by PCRs and toxins A/B-positive by EIA.

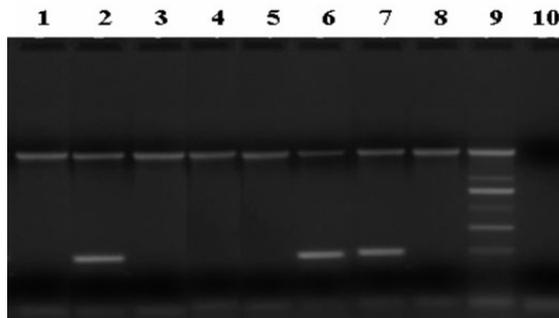


Figure 1
Multiplex PCR of *Clostridium perfringens* isolates from swine.

Lanes 1, 3, 4, 5 and 8: type A strains (*cpa*+); lanes 2, 6 and 7: type A strains (*cpa*+/*cpb*2+); lane 9: *C. perfringens* positive control (*cpa*+/*cpb*+/*cpe*+/*etx*+/*iap*+/*cpb*2+); lane 10: negative control (“0 DNA”); lane 11: molecular size markers (100 bp Molecular Ruler, Biorad, Italy).

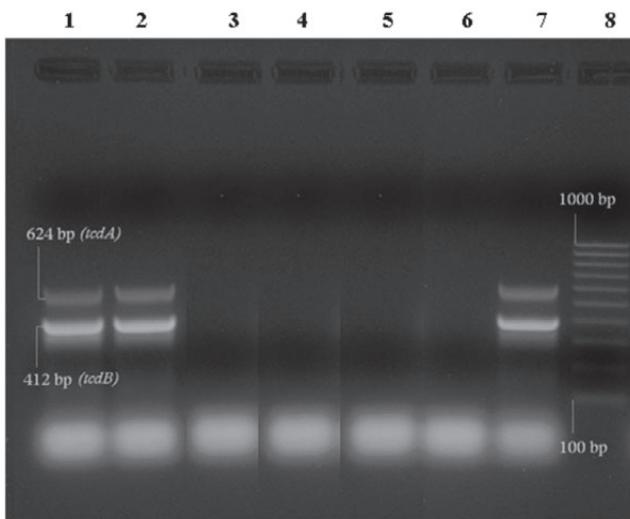


Figure 2

Duplex PCR for *tcdA* and *tcdB* genes of *Clostridium difficile* isolates from swine.

Lanes 1 and 2: *C. difficile tcdA*+/*tcdB*+ strain, amplified in duplicate; lanes 3-5: *C. difficile tcdA*-/*tcdB*- strains; lane 6: negative controls (“0 DNA”); lane 7: *C. difficile* positive control (*tcdA*+/*tcdB*+); lane 8: molecular size markers (100 bp Molecular Ruler, Biorad, Italy).

DISCUSSION

Clostridium perfringens may be one of the most widespread pathogen. It is commonly found in terrestrial and marine environments and is also readily found in intestinal contents of healthy humans and other animals (Marks and Kather 2003; Ferrarezi *et al* 2008).

This organism can cause gas gangrene and food poisoning in humans; necrotic enteritis in poultry; enterotoxaemia in lambs and calves; and enteritis in pigs, cattle, dogs, and horses (Songer 1996; Petit *et al* 1999).

Clostridium perfringens type A is the most common of all the *C. perfringens* types. This bacterium produces alpha toxin (CPA) as well as other non-typing toxins, such as enterotoxin (CPE) and $\beta 2$ (CPB2) (Ceci *et al* 2006; Brown *et al* 2007; Morris *et al* 2011).

Enterotoxin has been associated with diarrhoeal disease in some animal species, and, more importantly, with food poisoning in humans (Songer 1996; Lahti *et al* 2008). The $\beta 2$ -toxin has been associated with the onset of enteritis in pigs, horses, and cattle (Schotte *et al* 2004; Slavić *et al* 2011).

Type A strain, that produce only CPA among the major toxins, is a member of the normal flora of warm-blooded animals and is recovered from environment contaminated by faeces. However, when properly equipped genetically and placed in opportune situations, the organism can cause gas gangrene, food poisoning, and gastrointestinal illness in humans, necrotic enteritis in chickens, necrotizing enteritis in piglets, and abomasitis, tympany, and hemorrhagic enteritis in calves (Songer 1996; Sawires and Songer 2006; Ferrarezi *et al* 2008).

Although *C. perfringens* type A has been linked to abomasal ulcers and inflammation, as well as necrotic enteritis, in calves and cows, and CPA- and CPB2- encoding genes have been detected in some of these cases, the bacteria has also been isolated from the intestinal content of healthy animals. Therefore, its role as intestinal pathogen is still unclear (Morris *et al* 2011).

Clostridium difficile is ubiquitous in the environment. In addition to humans, *C. difficile* has also been found in calves, ostriches, chickens, elephants, dogs, horses, and pigs, but its role in infection and its pathogenesis in animals are largely poorly understood and possibly underestimated (Rupnik 2007; Weese *et al* 2009; Freeman *et al* 2010).

This bacterium is an important cause of enteric disease in humans. It is the most commonly diagnosed cause of hospital-and antimicrobial agent-associated diarrhoea in people. Similarly, any association between antibiotic usage and *C. difficile* colonization or diarrhoea in animals is less well documented than that in humans, although the acquisition of *C. difficile* in dogs and cats during hospitalization in an intensive-care unit was associated with the development of diarrhoea (Cloten *et al* 2008). In an experimental study, it was also demonstrated that erythromycin can induce severe colitis associated with the proliferation of *C. difficile* in mature horses (Båverud 2002; Freeman *et al* 2010).

Recent evidence suggests that it may be emerging as an important community-associated pathogen. In fact, this organism has also been found in retail

meat, and concerns about the role of food in the epidemiology of community-associated *C. difficile* infection (CDI) have been expressed (Weese *et al* 2009).

In this study, about 67.6% of *C. perfringens* isolates were from diarrhoeic calves (n=23 of 34). No isolation was obtained from the 4 non-diarrhoeic calves tested or from the others bovine healthy samples. This difference is statistically significant (two-tailed Fisher's P=0.018). This high rate of recovery from diseased animals is not surprising, because they had diarrhoea and strains of type A are found normally in the intestine, even in neonates, and some contend that isolation of these organisms from calves with enteritis should not be given etiologic significance.

We assessed the toxinotype of the 37 (31.1%) *C. perfringens* isolates from 119 diarrhoeic and non-diarrhoeic faecal and intestine samples. All 37 *C. perfringens* strains were, as above mentioned, from diarrhoeic subjects, in particular calves, and they were type A by PCRs, containing amplicons of *plc/cpa*, corroborating the results of others (Ferrarezi *et al* 2008).

No other type of *C. perfringens* was isolated and none of strains contained *cpe* or others toxin-encoding genes: *C. perfringens* type A *cpb2*-positive was not isolated, although data linking *cpb2*-harbouring *C. perfringens* with bovine enterotoxaemia are rapidly growing, especially in calves (Manteca *et al* 2002; Bueschel *et al* 2003; Lebrun *et al* 2007; van Asten *et al* 2010).

All 23 non-diarrhoeic dairy cow samples resulted *C. perfringens*-negative, but *C. difficile* was frequently isolated (47.8%: n=11 isolates from 23 healthy cows). On the whole, 61.1% of *C. difficile* strains (n=11 of 18 isolates) were from healthy bovine animals. However, all 18 *C. difficile* strains resulted non-toxigenic (*tcdA/tcdB* and *cdtA/cdtB*-negative).

Concerning the swine specimens, out of the 17 *C. perfringens* type A swine isolates (15.4%), 10 (58.8%) were from diarrhoeic swine and eight of them (80.0%) were also *cpb2*-positive. Percentages of positive cultures were different in diarrhoeic and healthy swine (23.2%, versus 10.4%). However, this difference was not statistically significant (two-tailed Fisher's P=0.103).

Probably, the high rate of occurrence of *cpb2*-positivity among swine strains isolated from animals with enteritis could be consistent with the contention that CPB2 plays a role in pathogenesis of the disease (Thiede *et al* 2001; Bueschel *et al* 2003). On the contrary, the detection of strains harbouring *cpb2* in healthy animals is not necessary a risk in itself, although β -2-toxigenic *C. perfringens* can become an emerging health threat if circumstances appear which provoke enteric dysbiosis or immunosuppression (Schotte *et al* 2004).

Thirty-eight *C. difficile*-positive swine samples belonged to healthy animals and all isolates were non-toxigenic (*tcdA/tcdB* and *cdtA/cdtB*-negative); only in one *C. perfringens cpb2*-positive diarrhoeic sample, a toxigenic *C. difficile* strain (2.56%) was also isolated. It tested *tcdA/tcdB* and *cdtA/cdtB*-positive by PCRs and toxins A/B-positive by EIA (0.9%).

In our study we found a higher isolation percentage (34.5%) of *C. difficile* non-toxigenic strains in swine than in other studies (Songer *et al* 2007). Really, *C. difficile* readily colonizes the large intestines of neonates of most species mammals (Keel and Songer 2007). Therefore, we could conclude that, since this organism, in particular non-toxigenic strains, can be found in healthy pigs, as commonly in the colon of clinically normal animals, its isolation may have little diagnostic relevance.

CONCLUSION

Information about the genetic diversity of the *Clostridium* pathogens may result in greater understanding of methods used for disease control in cattle and swine. Numerous prophylaxis and treatment methods, including antibiotics, vaccines, prebiotics, and probiotics, are now used in the meat industry with various degrees of success.

Molecular genotyping methods, which are mainly PCR-based (Ferrarezi *et al* 2008), have become the standard for toxinotyping and ribotyping of *C. perfringens* and *C. difficile*, respectively. These findings can be used for epidemiologic studies, prophylaxis programs, and to formulate strategies for correct use of vaccines (Ferrarezi *et al* 2008).

We can conclude that, since *C. perfringens* and *C. difficile* are commonly found in clinically normal animals, the mere isolation of these organisms may have little diagnostic relevance. The molecular genotyping/toxinotyping should be applied to establish a final diagnosis and to assess properly the full implications and the epidemiological impact of these findings in particular in samples of healthy animals.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors wish to thank Mrs. Cinzia Reverberi and Mr. Roberto Lurisi for their technical support, and the Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna - Sezione di Parma (Italy) for kindly providing some *C. perfringens*-positive strains.

REFERENCES

1. Baker A.A., Davis E., Rehberger T., Rosener D. (2010): Prevalence and diversity of toxigenic *Clostridium perfringens* and *Clostridium difficile* among swine herds in the Midwest. *Appl. Environm. Microbiol.* 76, 2961-2967.
2. Baums C.G., Shotte U., Amtsberg G., Goethe R. (2004): Diagnostic multiplex PCR for toxin genotyping of *Clostridium perfringens* isolates. *Vet. Microbiol.* 100, 11-16.
3. Båverud V. (2002) *Clostridium difficile* infections in animals with special reference to the horse. A review. *Vet. Q.* 24, 203-219.
4. Brown C.C., Baker D.C., Barker I.K. (2007): Alimentary system. In: Jubb, Kennedy and Palmer's pathology of domestic animals, ed. Maxie M.G., 5th ed., pp. 1-296. Saunders Elsevier, St. Louis, MO.
5. Buchanan A.G. (1982): Clinical laboratory evaluation of a reverse CAMP test for presumptive identification of *Clostridium perfringens*. *J. Clin. Microbiol.* 16, 761-762.
6. Bueschel D.M., Jost B.H., Billington S.J., Trinh H.T., Songer J.G. (2003): Prevalence of *cpb2*, encoding beta2 toxin, in *Clostridium perfringens* field isolates: correlation of genotype with phenotype. *Vet. Microbiol.* 94, 121-129.
7. Ceci L., Paradies P., Sasanelli M., et al. (2006): Haemorrhagic bowel syndrome in dairy cattle: possible role of *Clostridium perfringens* type A in the disease complex. *J. Vet. Med. A Physiol. Pathol. Clin. Med.* 53, 518-523.
8. Cloten J., Kruth S., Arroyo L., Weese J.S. (2008): Prevalence and risk factors for *Clostridium difficile* colonization in dogs and cats hospitalized in an intensive care unit. *Vet. Microbiol.* 129, 209-214.
9. Coppe P., Kaeckenbeeck A., Mainil J.G. (2002): A role for the *Clostridium perfringens* beta2-toxin in bovine enterotoxaemia? *Vet. Microbiol.* 86, 191-202.
10. Fach P., Popoff M.R. (1997): Detection of enterotoxigenic *Clostridium perfringens* in food and faecal samples with a duplex PCR and the slide latex agglutination test. *Appl. Environ. Microbiol.* 63, 4232-4236.
11. Ferrarezi M.C., Cardoso T.C., Dutra I.S. (2008): Genotyping of *Clostridium perfringens* isolated from calves with neonatal diarrhea. *Anaerobe* 14, 328-331.
12. Freeman J., Bauer M.P., Baines S.D., Corver J., Fawley W.N., Goorhuis

- B., Kuijper E.J., Wilcox M.H. (2010): The changing epidemiology of *Clostridium difficile* infections. *Clin. Microbiol. Reviews* 23, 529-549.
13. Hammitt M.C., Bueschel D.M., Keel M.K., Glock R.D., Cuneo P., DeYoung D.W., Reggiardo C., Trinh H.T., Songer J.G. (2008): A possible role for *Clostridium difficile* in the etiology of calf enteritis. *Vet. Microbiol.* 127, 343-352.
 14. Keel M.K., Songer J.G. (2006): The comparative pathology of *Clostridium difficile*-associated disease. *Vet. Pathol.* 43, 225-240.
 15. Keel M.K., Songer J.G. (2007): The distribution and density of *Clostridium difficile* toxin receptors on the intestinal mucosa of neonatal pigs. *Vet. Pathol.* 44, 814-822.
 16. Kreft B., Dalhoff K., Sack K. (2000): Necrotizing enterocolitis: a historical and current review. *Medizinische Klinik (Munich)* 95, 435-441 (In German).
 17. Lahti P., Heikinheimo A., Johansson T., Korkeala H. (2008): *Clostridium perfringens* type A strains carrying a plasmid-borne enterotoxin gene (genotype IS1151-cpe or IS1470-like-cpe) as a common cause of food poisoning. *J. Clin. Microbiol.* 46, 371-373.
 18. Lebrun M., Filee P., Mousset B., Desmecht D., Galleni M., Mainil J.G., Linden A. (2007): The expression of *Clostridium perfringens* consensus beta2 toxin is associated with bovine enterotoxaemia syndrome. *Vet. Microbiol.* 120, 151-157.
 19. Lebrun M., Mainil J.G., Linden A. (2010): Cattle enterotoxaemia and *Clostridium perfringens*: description, diagnosis and prophylaxis. *Veterinary Record* 167, 13-22.
 20. Manteca C., Daube G., Jauniaux T., Linden A., Pirson V., Detilleux J., Ginter A., Coppe P., Kaeckenbeeck A., Mainil J.G. (2002): A role for the *Clostridium perfringens* beta2-toxin in bovine enterotoxaemia? *Vet. Microbiol.* 86, 191-202.
 21. Marks S.L., Kather E.J. (2003): Bacterial-associated diarrhea in the dog: a critical appraisal. *Vet. Clin. Small Anim.* 33, 1029-1060.
 22. Morris W.E., Venzano A.J., Elizondo A., Vilte D.A., Mercado E.C., Fernandez-Miyakawa M.E. (2011): Necrotic enteritis in young calves. *J. Vet. Diagn. Invest.* 23, 254-259.
 23. Petit L., Gilbert M., Popoff M.R. (1999): *Clostridium perfringens*: toxinotype and genotype. *Trends Microbiol.* 7, 104-110.
 24. Rodriguez-Palacios A., Stämpfli H.R., et al. (2006): *Clostridium difficile* PCR ribotypes in calves, Canada. *Emerg. Infect. Dis.* 12, 1730-1736.

25. Rupnik M. (2007): Is *Clostridium difficile*-associated infection a potentially zoonotic and foodborne disease? *Clin. Microbiol. Infect.* 13, 457-459.
26. Sawires Y.S., Songer J.G. (2006): *Clostridium perfringens*: insight into virulence evolution and population structure. *Anaerobe* 12, 23-43.
27. Schotte U., Truyen U., Neubauer H. (2004): Significance of β 2-toxigenic *Clostridium perfringens* infections in animals and their predisposing factors - A Review. *J. Vet. Med.* 51, 423-426.
28. Slavić D., Boerlin P., Fabri M., Klotins K.C., Zoethout J.K., Weir P.E., Bateman D. (2011): Antimicrobial susceptibility of *Clostridium perfringens* isolates of bovine, chicken, porcine, and turkey origin from Ontario. *Canadian J. Vet. Research* 75, 89-97.
29. Song X., Bartlett J.G., Speck K., Naegeli A., Carroll K., Perl T.M. (2008): Rising economic impact of *Clostridium difficile*-associated disease in adult hospitalized patient population. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 29, 823-828.
30. Songer J.G. (1996): Clostridial enteric diseases of domestic animals. *Clin. Microbiol. Rev.* 9, 216-234.
31. Songer J.G., Post K.W., Larson D.J., Jost B.H., Glock R.D. (2000): Infection of neonatal swine with *Clostridium difficile*. *Swine Health Prod.* 8, 185-189.
32. Songer J.G., Jones R., Anderson M.A., Barbara A.J., Post K.W., Trinh H.T. (2007): Prevention of porcine *Clostridium difficile*-associated disease by competitive exclusion with nontoxigenic organisms. *Vet. Microbiol.* 124, 358-361.
33. Spigaglia P., Mastrantonio P. (2002): Molecular analysis of the pathogenicity locus and polymorphism in the putative negative regulator of toxin production (TcdC) among *Clostridium difficile* clinical isolates. *J. Clin. Microbiol.* 40, 3470-3475.
34. Stubbs S., Rupnik M., Gilbert M., Brazier J., Duerden B., Popoff M. (2000): Production of actin-specific ADP-ribosyltransferase (binary toxin) by strains of *Clostridium difficile*. *FEMS Microbiol. Lett.* 186, 307-312.
35. Thiede S., Goethe R., Amtsberg G. (2001): Prevalence of β 2 toxin gene of *Clostridium perfringens* type A from diarrhoeic dogs. *Veterinary Record* 149, 273-274.
36. van Asten A.J.A.M., Nikolaou G.N., Gröne A. (2010): The occurrence of *cpb2*-toxigenic *Clostridium perfringens* and the possible role of the β 2-

- toxin in enteric disease of domestic animals, wild animals and humans. A review. *The Vet. J.* 183, 135-140.
37. Van Immerseel F., de Buck J., Pasmans F., Huyghebaert G., Haesebrouck F., Ducatelle R. (2004): *Clostridium perfringens* in poultry: an emerging threat for animal and public health. *Avian Pathol.* 33, 537-549.
 38. Waggett B.E., McGorum B.C., Wernery U., Shaw D.J., Pirie R.S. (2010): Prevalence of *Clostridium perfringens* in faeces and ileal contents from grass sickness affected horses: comparisons with 3 control populations. *Equine Vet. J.* 42, 494-499.
 39. Weese J.S., Avery B.P., Rousseau J., Reid-Smith R.J. (2009): Detection and enumeration of *Clostridium difficile* spores in retail beef and pork. *Appl. Environm. Microbiol.* 75, 5009-5011.

LA NORMAZIONE

G. Signorini¹, G. Biagi², D. Dilaghi³, G. Carlini⁴, L. Caggiati⁵

DEFINIZIONI

Il vocabolario Gabrielli della lingua italiana definisce “norma” *«regola, precetto generale a cui ci si deve uniformare (norma di diritto, norma disciplinare, norma igienica)»*; più in generale con questo termine si intende indicare una regola di comportamento, un modello a cui attenersi nei vari ambiti (morale, giuridico, sociale, tecnico). Di conseguenza “normare” è l’attività di regolare, disciplinare, rendere conforme alla norma e “normativa” è da intendersi come l’insieme di norme relative a un settore o ad una disciplina particolari.

Come sarà dettagliatamente esaminato di seguito, infine, le cosiddette “norme tecniche” sono documenti approvati da organismi riconosciuti, prodotti mediante il consenso degli interessati allo scopo di fornire, per usi comuni e ripetuti, regole, linee guida o caratteristiche, relative a determinate attività o ai loro risultati, al fine di ottenere il miglior ordine in un determinato contesto. Con il termine “normazione” si indica, nel diritto in generale, quel particolare tipo di funzione pubblica che consiste nel produrre, attraverso appositi atti giuridici (atti normativi) norme giuridiche generali ed astratte che realizzano l’ordinamento giuridico stesso. Lo stesso termine, nello specifico ambito che qui esaminiamo, indica l’attività che, con riferimento a problemi effettivi o potenziali, mira a stabilire disposizioni per gli usi comuni ripetitivi; disposizioni che hanno quindi lo scopo di ottenere l’ordine migliore in un determinato contesto.

Nel linguaggio comune il termine “normazione” viene spesso usato come sinonimo di “legislazione”, anche se ciò non è corretto: la legislazione è in realtà il complesso delle leggi di un determinato paese, di una data epoca, di un preciso settore, ecc., poste in essere attraverso l’attività legislativa che consiste nel formulare e promulgare le leggi attraverso una specifica fonte del diritto.

1 Libero Docente in Semeiologia Veterinaria

2 Professore Associato - Dipartimento di Clinica Veterinaria – Università di Pisa

3 Laureato frequentatore - Dipartimento di Clinica Veterinaria – Università di Pisa

4 Libero Professionista - Firenze

5 Libero professionista - Mantova

Comunque sottolineiamo che negli ordinamenti attuali al termine “legge”, oltre al valore generico di atto normativo viene attribuito il significato più particolare di atto del potere legislativo per cui in questo contesto sostituire normazione con legislazione potrebbe rivelarsi riduttivo poiché in tali ordinamenti funzioni normative sono svolte anche da altri poteri dello Stato. Ricordiamo, a questo proposito, che la dottrina distingue tra legge in senso formale, che in Italia è l’atto promulgato dal Parlamento secondo il preciso iter definito dagli artt. 70 e seguenti della Costituzione, e legge in senso materiale, ossia ogni atto avente contenuto normativo, indipendentemente dalla forma e dall’organo che lo pone in essere.

Dalla definizione generale di “norma” discende quella, relativa a uno specifico ambito del diritto, di “norma tecnica”. La Direttiva Europea 98/34/CE del 22 giugno 1998 (GUCE n. L 204, 21/07/1998) definisce “norma tecnica” una *«specifica tecnica approvata da un organismo riconosciuto a svolgere attività normativa per applicazione ripetuta o continua, la cui osservanza non sia obbligatoria e che appartenga ad una delle seguenti categorie: norma internazionale: norma che è adottata da un’organizzazione internazionale di normalizzazione e che viene messa a disposizione del pubblico; norma europea: norma che è adottata da un organismo europeo di normalizzazione e che viene messa a disposizione del pubblico; norma nazionale: norma che è adottata da un organismo nazionale di normalizzazione e che viene messa a disposizione del pubblico»*. Le norme tecniche sono quindi disposizioni per gli usi comuni e ripetitivi di prodotti o servizi; sono relative a problemi effettivi e potenziali; mirano ad ottenere l’ordine migliore in un determinato contesto; sono di applicazione consigliata ma non obbligatoria. Devono inoltre essere accessibili al pubblico e messe a punto con la cooperazione e il consenso di tutte le parti interessate (produttori, utenti, Autorità). Devono trovare il loro fondamento nei risultati di scienza, tecnologia, esperienza ed essere, quindi, rappresentative dello “stato dell’arte”, definito come stadio di sviluppo raggiunto in un determinato momento. Devono infine avere come scopo il vantaggio della comunità e il progresso civile. Ricordiamo tuttavia che, sebbene approvate da un organismo riconosciuto sul piano nazionale o internazionale, esse divengono obbligatorie solo se espressamente richiamate in atti legali e/o amministrativi.

Più in particolare la “normativa tecnica internazionale” consiste nelle norme tecniche volontarie elaborate ed emesse dall’ISO - Istituto per la normativa Internazionale -, costituito da rappresentanti degli enti membri di oltre 180 Paesi; “normativa tecnica europea” è invece l’insieme delle norme tecniche

emesse dall'apposito organo (CEN) della Comunità europea. La "normativa tecnica italiana" è infine quella elaborata ed emessa dall'ente normatore italiano, l'UNI che ha emanato numerose norme in quasi ogni settore.

Da quanto sopra riportato si evince come la normazione sia un'attività che cerca di trovare le soluzioni migliori a problemi ricorrenti e che tende a conseguire il grado ottimale di ordine in un determinato ambito. Questo è possibile in quanto le norme sono dei punti di riferimento, dei sistemi comuni di lavoro a disposizione del pubblico, delle particolari regole ratificate da un Organismo riconosciuto che si accettano ed applicano su base volontaria e possono essere riconosciute a livello nazionale (note con la sigla UNI), europeo (note con la sigla EN o CEN) o internazionale (note con la sigla ISO, IEC, o ITU-T).

Le norme possono riferirsi a diversi campi e fra questi ricordiamo la terminologia, la simbologia, le metodologie, le caratteristiche di un prodotto/servizio, i sistemi di gestione, ecc.: in genere queste norme hanno lo scopo di assecondare e facilitare l'impiego di un linguaggio comune e fundamentalmente servono a realizzare un fattore base per l'armonizzazione e la standardizzazione internazionale, anche se non dobbiamo dimenticare che sono soggette ad interpretazione proprio come le leggi.

Una norma tecnica può fornire precisazioni riguardo ai requisiti di prodotti, processi, servizi, sistemi qualità (o ambiente, ecc.); ai requisiti per l'accreditamento di sistemi di certificazione, degli organismi che li attuano e dei laboratori di prova; ai metodi di prova per la verifica della conformità alle norme; alle modalità di misura, prova e taratura di apparecchi e strumenti. E può essere impiegata dalle imprese per ottenere la qualificazione e l'inserimento in albi; la certificazione/accreditamento; la guida per la gestione; le esigenze contrattuali.

In ultima analisi una norma tecnica è un documento che, usando un linguaggio comune ma tecnicamente, appunto, preciso, favorisce la comunicazione orizzontale e verticale fra imprese, pubblica amministrazione e utenti/consumatori; in tal modo esse sanciscono un equilibrio socioeconomico fra i diversi attori che condividono le intese e gli accordi commerciali, piattaforma per qualsiasi economia di mercato, e base necessaria delle relazioni fra cliente e fornitore.

Per rispondere a queste funzioni una norma tecnica deve necessariamente possedere alcune caratteristiche imprescindibili. Prima di tutto essa deve contenere specifiche tecniche di applicazione volontaria ed essere elaborata attraverso il consenso delle parti interessate (produttori, pubblica amministra-

zione, utenti e consumatori, centri di ricerca e laboratori, collegi e ordini professionali). In generale deve essere liberamente accessibile al pubblico, ma possono fare eccezione norme particolari, squisitamente tecniche, che restano interne all'azienda o all'organismo che deve applicarle. Deve inoltre basarsi sui risultati sia dell'esperienza che dello sviluppo tecnologico ed essere validata dall'approvazione di un organismo di normazione riconosciuto (internazionale, nazionale o regionale). A questo proposito si usa definire come *de facto*, o norma consuetudinaria, una specifica tecnica posta in essere da una o più aziende che assume poi carattere generale per la diffusione nel mercato; si definisce invece norma *de jure* una specifica tecnica approvata da un organo di normazione, ufficialmente riconosciuto, applicata in maniera ripetuta e continuativa anche senza che detta norma sia di applicazione obbligatoria (GATT e definizioni delle direttive CEE 83/189).

GLI ORGANISMI DI NORMAZIONE

L'esigenza di trovare le soluzioni migliori a problemi ricorrenti e di ottenere il grado ottimale di ordine in un determinato ambito (produttivo, organizzativo, ecc.), a cui le norme tecniche, come sopra definite e descritte, cercano di dare risposte, ha reso inevitabile la nascita, di una serie di organismi e organizzazioni che hanno esattamente questo come scopo istituzionale.

Il 23 febbraio 1947 è stata fondata l'Organizzazione internazionale per la normazione o *International Organization for Standardization*, conosciuta come ISO, e contrariamente a quanto si può pensare questo non è un acronimo ma si è attinto al greco *ἴσος* (isos), "uguale", termine sufficientemente breve che riveste un carattere di universalità, al contrario dell'acronimo che dipende dalla lingua rispetto al quale viene usato. Ha sede a Ginevra in Svizzera: è la più importante organizzazione a livello mondiale per la definizione di norme tecniche, costituita dagli organismi nazionali di standardizzazione di 162 Paesi del mondo. In Italia tale organismo è l'UNI (Ente Nazionale di Unificazione), che recepisce, armonizza e diffonde le norme ISO. È vero che l'ISO si presenta come un'Organizzazione Non Governativa (ONG), tuttavia vogliamo sottolineare che la sua riconosciuta autorità di statuire degli standard che diventano norme per mezzo di accordi e trattati, le conferisce un potere che in genere le ONG non hanno, tanto che essa, in concreto, funziona come consorzio con legami molto stretti con i governi.

Nel 1961 in Europa è stato fondato il Comitato Europeo di Normazione (CEN), ente normativo con il fine di armonizzare e produrre norme tecniche

(EN) collaborando con enti normativi nazionali e sovranazionali in quanto agisce in sintonia con le politiche dell'Unione Europea e dell'Associazione Europea di Libero Scambio (European Free Trade Association, EFTA) per facilitare il libero scambio, la sicurezza dei lavoratori e dei consumatori, la protezione dell'ambiente, ecc.

Gli Organismi di normazione possono essere sopranazionali (come l'ISO, l'IEC, l'ITU-T), europei (come il CENELEC) e nazionali (come l'UNI, il CEI). L'ISO è l'organismo leader nel mondo per lo sviluppo di standard. Emanava standard volontari per tutti i campi tecnici tranne per quelli elettrico ed elettronico che sono promulgati dall'IEC e quello dell'information technology che è di competenza dell'ITU-T. Per quanto riguarda infine la qualità, l'ISO sviluppa gli standard di riferimento per le organizzazioni che vogliono certificarsi. In Italia l'UNI realizza attività normativa in tutti i campi tranne quello elettrico ed elettronico coperti dal CEI.

Nell'ambito delle attività dell'ISO, la CASCO (Committee on conformity assessment) opera per lo sviluppo delle politiche sulla conformità valutando le metodologie usate dagli organismi accreditati nelle loro verifiche della conformità dei Sistemi di gestione della qualità alla norma di riferimento. A tale scopo redige linee guida sulla conduzione di tali verifiche.

Ricordiamo infine che il compito di standardizzare le attività e metodologie degli organismi di accreditamento, attraverso la predisposizione di linee guida *ad hoc*, è svolta dall'International Accreditation Forum (IAF).

In conclusione possiamo dire che i compiti principali degli Organismi di normazione si possono sinteticamente riassumere nell'individuare soluzioni a problemi che reiterano in diversi settori di attività; nell'identificare chiaramente i requisiti e indicarli negli standard di riferimento progettati, pubblicandoli per favorirne la divulgazione; nel proporre un nesso fra unificazione dei prodotti, terminologia e simbologia usate, metodologie di misurazione e monitoraggio, e quant'altro; nel realizzare un ausilio continuo per potenziare la validità, l'incisività e la funzionalità del lavoro; nel preservare gli interessi delle parti interessate deboli.

LO STATO DELL'ARTE

Da quanto sopra esposto si evince come l'attività di normazione sia costituita dal predisporre documenti tecnici, basati sull'adesione volontaria, sulla consensualità e sui procedimenti caratterizzati dalla trasparenza; documenti che, pur essendo di attuazione volontaria, siano però in grado di dotare gli

operatori di riferimenti certi e possano quindi avere un'evidente importanza contrattuale. Tanto è vero che, per la rilevanza e l'impatto dell'oggetto preso in considerazione da talune di queste norme, non è infrequente che le Pubbliche Amministrazioni facciano riferimento ad esse con espliciti richiami in atti di natura legislativa. Di conseguenza dette norme vengono ad avere carattere cogente. In effetti, dal momento che l'utilizzo delle norme come strumenti contrattuali diventa sempre più rilevante con conseguente riconoscimento della loro necessità assoluta, possiamo dire che conformarsi e rispettarle avviene quasi "imposto" dal mercato.

La graduale ma inesorabile evoluzione della normazione sviluppatasi in questi ultimi decenni ha dato luogo non solo ad un allargamento dei suoi orizzonti geografici ma anche ad un evidente allargamento della sua area concettuale, tanto che oggi il suo campo di interesse riguarda, per esempio, la definizione dei processi, dei servizi e dei livelli di prestazione, interfacciandosi in tutte le fasi di vita del prodotto e nelle attività di servizio arrivando ad occuparsi anche di precisare gli aspetti di sicurezza, di organizzazione aziendale (UNI EN ISO 9000) e di protezione ambientale (UNI EN ISO 14000), così da tutelare le persone, le imprese e l'ambiente.

Occorre a tal proposito sottolineare l'importanza, anche in questo contesto, delle trasformazioni del mercato, avvenute in questi stessi decenni: da locale a nazionale prima, ad europeo poi ed a internazionale, o globale, oggi. Contemporaneamente si è assistito ad una equivalente trasformazione del sistema normativo dei singoli paesi da nazionale e sovranazionale, tanto che anche la World Trade Organization (WTO) ha approvato e riconosciuto l'importanza del lavoro fatto.

La partecipazione di 162 Paesi ai lavori dell'ISO è diretta conseguenza di questo *status*, anche perché è ormai unanime il riconoscimento della rilevanza che le norme emesse hanno sui mercati mondiali, nonostante non esista alcuna obbligatorietà di recepimento per gli organismi di normazione nazionale aderenti. A tale proposito riteniamo importante evidenziare che nell'Unione Europea la situazione, da questo punto di vista, è significativamente diversa. Il sistema della normazione europeo, all'opposto di quello ISO, si sta ormai da tempo strutturando come via via più rigorosamente in relazione con un insieme sempre più completo di direttive dell'Unione perché si è qui sentita la necessità di dotarsi di principi interni meno flessibili: gli organismi di normazione membri del CEN sono infatti obbligati a recepire le norme europee e a ritirare le proprie, se contrastanti. Di conseguenza l'attività normativa nazionale sta diventando sempre più circoscritta a problematiche essenzial-

mente di carattere locale o non ancora tali da essere considerate di interesse. Sempre di conseguenza, è inevitabile, che a questo punto le norme nazionali siano gradualmente rimpiazzate da quelle europee, oppure da norme ISO in quei contesti in cui si assiste al coinvolgimento del mercato globale e su temi non presi in considerazione nell'Unione Europea.

Volendo delineare un quadro riassuntivo di quanto l'utilizzatore italiano, trova a sua disposizione dal punto di vista normativo, abbiamo norme ISO non adottate a livello nazionale (ISO); norme ISO adottate a livello nazionale (UNI ISO); norme ISO adottate dal CEN e, conseguentemente, a livello nazionale (UNI EN ISO); norme CEN (UNI EN); norme UNI. Si sommano alle norme altri documenti come le Specifiche tecniche, i Rapporti tecnici e le Guide, oltre alle norme di altri paesi UE o membri ISO, le specifiche di organizzazioni esterne ad ISO o di istituzioni non normative, ma di impiego corrente.

Occorre anche segnalare che la Direttiva 98/34/CE prevede una procedura d'informazione nel settore delle norme e delle regolamentazioni tecniche nonché delle regole relative ai servizi della società dell'informazione; inoltre stabilisce che gli Stati Membri devono notificare i loro organismi di normazione nazionali ai fini dell'attribuzione del mutuo riconoscimento di unico organismo preposto all'attività normativa a livello nazionale: in tal modo è possibile uniformare la progettazione e la predisposizione delle norme e delle regole tecniche del Mercato Comune dell'Unione. All'interno di questa cornice i vari paesi possono essere inquadrati come Stati Membri dell'Unione in cui la conformità alle norme EN fa presupporre la conformità alle direttive europee e permette l'apposizione del marchio CE ai prodotti, oppure come paesi esterni all'Unione Europea che a loro volta possono essere interni al CEN (si ha conformità alle norme EN ma non il recepimento delle direttive) od esterni al CEN (non è dovuto il recepimento delle direttive).

Diretta conseguenza di questa situazione è un quadro normativo sia internazionale che europeo molto vasto e complicato tanto da far sì che può diventare difficile capire quale è la norma appropriata da applicare in una data situazione, e anche quali i documenti che occorrono e dove reperirli. Senza dimenticare che molto spesso, forse troppo, i tempi di elaborazione e di pubblicazione delle norme sono decisamente lunghi.

Ci sembra di poter affermare, sulla base di quanto sin qui esaminato, che se, da una parte, è ovvio che una norma fornisce un valore aggiunto rispetto a qualunque altra specifica tecnica poiché scaturisce dall'intesa di tutte le parti interessate, è anche vero che quanto più numerose sono tali norme, tanto più

è difficile armonizzarle e trovare concordanze. Dovrebbe perciò essere compito precipuo e primario degli Enti di Normazione individuare le convergenze fra i vari interessi prima di proporre il testo finale di una norma con conseguente allungamento dei tempi.

REDAZIONE DI UNA NORMA

Le norme devono essere stilate secondo regole pertinenti e chiare che, da una parte, assicurino l'omogeneità strutturale e formale dei loro contenuti, dall'altra rendano più facile la loro lettura all'utente.

È fondamentale che nell'articolazione delle norme siano ben riconoscibili le parti "normative" e quelle "informative": alle prime è necessario attenersi per assicurare la conformità alla norma, le seconde costituiscono la base per capire meglio la norma o per dare spiegazioni ed esempi.

Gli elementi normativi tecnici garantiscono ed attestano le disposizioni essenziali di una norma e, in base all'ambito della norma stessa, stabiliscono i termini, le definizioni, i requisiti, le raccomandazioni, i metodi di prova, i codici di calcolo e di installazione e, in particolare, se si tratta degli aspetti di un prodotto che interessano più parti implicate nell'utilizzo della norma possono includere requisiti di sicurezza, di prestazione, di manutenzione, di installazione, di qualità, di dimensione, di ergonomia, di terminologia, ecc.

Per quanto riguarda invece gli elementi informativi preliminari, essi sono identificabili con i contenuti della copertina del documento che contiene la norma, nonché dalla premessa, per il corretto dall'indice e dall'introduzione, che è tuttavia facoltativa. In essa si possono trovare informazioni quali spiegazioni o nozioni che fanno riferimento al contenuto tecnico della norma ed alle cause e principi che ne hanno sollecitato lo studio. È spesso considerata il punto "0". Nel loro insieme tali elementi, pur senza entrare nel merito della norma, contengono informazioni per la sua corretta applicazione.

Lo «Scopo e campo di applicazione», il punto "1" è presente all'inizio di ogni norma e deve indicare l'oggetto della norma ed i limiti di applicazione della stessa; deve permettere all'utilizzatore di comprendere se la norma collima con le proprie esigenze.

I «Riferimenti normativi» sono il punto "2"; riportano le norme citate nel testo, provenienti da organismi riconosciuti e necessarie per l'applicazione della norma stessa. Nella «Bibliografia», riportata in appendice, sono elencati i documenti di utile consultazione per l'applicazione della norma.

I «Termini e definizioni» sono un punto a sé ed hanno lo scopo di permettere

con certezza l'interpretazione dei termini utilizzati, in genere citati al singolare con una definizione chiara e sintetica senza requisiti.

I «Requisiti», nella maggioranza delle norme ma specialmente in quelle che qualificano i prodotti, riportano prima di tutto, esplicitamente o tramite riferimenti normativi, tutte le caratteristiche cui devono rispondere i prodotti, processi, servizi relativamente ai quali la norma è stata emessa; riportano poi, in termini numerici, i valori limite richiesti e le altre caratteristiche quantificabili; infine, per ogni requisito, indicano il riferimento al metodo di prova che deve essere adottato per determinare o verificare i valori delle caratteristiche. I «Metodi di prova», infatti, indicano le procedure da osservare per individuare i valori delle caratteristiche o per accertare la conformità ai requisiti specificati e per assicurare la riproducibilità dei risultati. Se opportuno occorre specificare se si tratta di prove di tipo, prove correnti, prove di campionamento, ecc.

Le «Appendici» possono essere sia normative che informative: le prime sono parte necessaria ed essenziale della norma anche se, per ragioni funzionali e organizzative, sono state poste alla fine del documento, dopo tutti gli altri elementi normativi; tuttavia, nel caso in cui all'appendice sia attribuito un carattere normativo questo deve essere esplicitamente dichiarato nel testo della norma e nell'intestazione dell'appendice stessa. Le Appendici informative invece danno un complemento d'informazione e non riportano disposizioni normative.

LETTURA DI UNA NORMA

La "codifica" della norma in primo luogo riporta una sigla, ISO, EN, UNI, eccetera che da un lato identifica l'Ente di Normazione e dall'altro indica il livello di condivisione (nazionale, europeo ed internazionale) seguita da un numero e dall'anno di pubblicazione che devono essere citati tutte le volte che si vuole richiamare.

Il "titolo" dichiara l'oggetto della norma stessa, che deve essere ben specificato per identificare la norma tra le altre ed in genere è costituito da fattori che vanno dal generale al particolare. Il primo è il "titolo di gruppo", che specifica il campo generale; il secondo è il "titolo principale", che specifica l'oggetto principale illustrato all'interno del campo generale; segue il "sottotitolo" che specifica un aspetto specifico dell'oggetto principale e permette di differenziare la norma dalle altre o, in alternativa, le diverse parti di una stessa norma. A completamento del titolo è riportato il "sommario" che in maniera sintetica

ed esaustiva dà informazioni sul contenuto della norma ed in genere fa riferimento allo “Scopo e campo di applicazione”, che deve essere letto molto attentamente dall’utenza.

Dopo la promulgazione, la nuova norma deve essere messa in relazione alle altre norme sull’oggetto vigenti in ambito nazionale, europeo ed internazionale. Le relazioni nazionali tracciano le interazioni con altre norme nazionali sull’argomento come norma di revisione di una norma esistente oppure norma in sostituzione di un’altra norma; in questo modo assicurano un ininterrotto adeguamento del parco normativo mantenendolo valido. Le relazioni internazionali delineano la correlazione con norme europee o internazionali e sono inserite dall’indicazione di uguaglianza con la norma in recepimento. Nella seconda pagina di copertina nella sezione così detta “premessa nazionale” sono riportate informazioni di carattere generale, relative all’Organo Tecnico UNI, che ha predisposto la norma, la data di approvazione della Commissione Centrale Tecnica e quella di ratifica del Presidente UNI, e le differenze rispetto all’edizione precedente.

Con il termine Organo Tecnico competente si indica, in generale, la Commissione Tecnica o l’Ente Federato dell’UNI che ha predisposto la norma e che detiene le conoscenze tecniche specifiche, atte a fornire chiarimenti od interpretazioni al testo della stessa, mentre, quando si tratta di norme nazionali, il termine indica l’Organo Tecnico che ha ratificato i contenuti tecnici della norma e che ne ha guidato la preparazione attraverso i propri Gruppi di lavoro. Nel caso specifico del recepimento/adozione di norme europee o internazionali si indica con lo stesso termine l’Organo che, attraverso le prestazioni di suoi esperti, organizzati come delegazioni formali alle riunioni plenarie dei Gruppi di Lavoro, fornisce contributi tecnici (principalmente nelle fasi di inchiesta pubblica) ai lavori preparatori presso i competenti Comitati Tecnici CEN/ISO. Se l’oggetto della norma riguarda più argomenti vengono chiamati in causa più Organi Tecnici (ad esempio due Commissioni Tecniche e/o Enti Federati) e si riconosce a tutti la paternità della norma (paternità mista). Vengono invece definite come norme a doppio patrocinio quelle che sono riferibili contestualmente a UNI o CEI. Quando vengono introdotte varianti su una norma preesistente, il documento relativo non può limitarsi ad elencare i punti modificati, deve invece esporre, sinteticamente ma in maniera esauriente, tutte le informazioni sulle più importanti modifiche tecniche introdotte.

NORMAZIONE E CERTIFICAZIONE

Nell'opinione comune frequentemente la normazione di un prodotto, o di una determinata attività, non si distingue dalla sua certificazione: è questo un errore poiché mentre la norma specifica i requisiti da rispettare e la certificazione assicura che realmente quel particolare prodotto, o quella precisa attività, rispetta i requisiti della norma.

La valutazione della conformità può avvenire in diversi modi, in particolare può essere di prima, seconda o terza parte. Una valutazione di prima parte è in pratica una autodichiarazione in quanto è una valutazione di conformità effettuata dalla stessa persona o organizzazione che dà l'oggetto della valutazione. Una valutazione di seconda parte è effettuata da una persona o da una organizzazione che è coinvolto come utilizzatore dell'oggetto della valutazione. Infine la valutazione di terza parte è effettuata da un organismo indipendente sia dalla persona sia dall'organizzazione che procura l'oggetto della valutazione, e dagli interessi dell'utilizzatore per l'oggetto stesso.

Dobbiamo ricordare che la funzione principale di queste norme è oltre quella di garantire, insieme alla qualità del prodotto o servizio o processo, la tutela ambientale, e, inoltre, esse devono fungere da stimolo per la crescita economica, aiutando a produrre meglio e più economicamente, in senso lato.

Queste funzioni entrano in gioco ogni volta che viene utilizzato un prodotto "a norma", riconoscibile perché riporta un marchio di conformità o l'indicazione di un riferimento a norma UNI.

Il marchio di conformità è un segno distintivo applicato su un prodotto (o in alcuni casi sulla sua confezione) in seguito a prove e verifiche svolte periodicamente in azienda su campioni significativi della produzione che testimonia il possesso delle caratteristiche specifiche stabilite dalla norma di riferimento. I marchi di conformità si distinguono in "obbligatori", quando attestano la conformità a regole tecniche di impiego obbligatorio (la marcatura "CE" ad esempio conferma, per certi prodotti, il rispetto dei requisiti necessari di sicurezza prescritti dalle relative direttive comunitarie); oppure "volontari", quando certificano che i prodotti hanno specifiche maggiori di quanto ritenuto necessario dalla legge e assicurano al consumatore la qualità del prodotto. È molto probabile che queste due tipologie di marchi saranno presenti in futuro contemporaneamente sullo stesso prodotto, poiché da una parte tutelano il consumatore nei confronti della legge, e dall'altra evidenziano certe peculiarità dal punto di vista qualitativo.

L'unico processo che autorizza a concedere il marchio di conformità è la "certificazione": è un atto attraverso il quale una terza parte "accreditata",

che non può essere né il produttore né il consumatore e che viene controllata regolarmente per assicurare la loro perizia e autonomia da organismi specifici (in Italia per esempio SINCERT, SINAL e SIT), esprime la conformità ai requisiti specificati nella una norma.

La “dichiarazione” di conformità invece può essere fornita solo dal produttore il quale garantisce che il prodotto, o il servizio, che riporta soltanto il riferimento ad una norma, è conforme a quella norma.

CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

A conclusione di quanto fin qui esposto, possiamo in primo luogo affermare che le norme tecniche non sono leggi.

Le norme tecniche sono atti che precisano le specifiche, come ad esempio le dimensioni, gli aspetti di sicurezza, i requisiti prestazionali, di un prodotto, processo o servizio secondo i requisiti tecnico/tecnologici. I loro contenuti sono predisposti da esperti “esterni” in rappresentanza delle parti economiche e sociali coinvolte (produttori, utilizzatori, commercianti, centri di ricerca, consumatori, pubblica amministrazione...) strutturati in gruppi di lavoro, sottocommissioni e commissioni, a seconda delle procedure previste dall'ente di normazione nazionale che, peraltro, ha soltanto il compito di coordinare i lavori, mettendo a disposizione la propria struttura organizzativa. Una norma tecnica è caratterizzata da consensualità, democraticità, trasparenza, volontarietà.

A partire dal '900, con il trascorrere degli anni, il concetto di normazione è andato incontro ad una reale e percepibile evoluzione assumendo accezioni sempre più ampie tanto che oggi l'attività di normazione include anche la definizione delle prestazioni dei prodotti, dei processi e dei servizi (in questo modo partecipa a tutte le fasi di vita del prodotto, dalla progettazione alla fruizione e alle attività terziarie) e si interessa anche di specificare i requisiti di sicurezza di un prodotto: qualità e sicurezza costituiscono quindi due principi cardine che indirizzano l'attività di normazione.

Gli obiettivi che costituiscono il fulcro delle attività di normazione in questo primo decennio del terzo millennio possono essere individuati nella ricerca di strumenti che facilitino la comunicazione tecnica, attraverso l'unificazione di simboli, codici, interfacce, ma anche nella ricerca di maggiore economicità dei processi produttivi, uniformando prestazioni, controlli, prove, collaudi.

Forse ancora più importanti sono però quegli obiettivi, di respiro più ampio, che consistono nel tutelare gli interessi dei consumatori e della collettività in

generale garantendo prima di tutto, attraverso la definizione dei requisiti di prodotti, processi, servizi, la sicurezza umana e ambientale.

RIASSUNTO

Gli Autori riportano la definizione di “norma” (regola, precetto generale a cui ci si deve uniformare), “normare” (attività di regolare, disciplinare, rendere conforme alla norma), “normativa” (insieme di norme relative a un settore o ad una disciplina particolari), “normazione” (particolare tipo di funzione pubblica che consiste nel produrre, attraverso appositi atti giuridici norme giuridiche generali ed astratte che realizzano l’ordinamento giuridico stesso); “norma tecnica” (specifica tecnica approvata da un organismo riconosciuto a svolgere attività normativa per applicazione ripetuta o continua, la cui osservanza non sia obbligatoria). Prendono in considerazione gli Organismi di normazione che possono essere sopranazionali (come l’ISO, l’IEC, l’ITU-T), europei (come il CENELEC) e nazionali (come l’UNI, il CEI) e quali norme può avere a disposizione l’utente italiano: norme ISO non adottate a livello nazionale (ISO); norme ISO adottate a livello nazionale (UNI ISO); norme ISO adottate dal CEN e, conseguentemente, a livello nazionale (UNI EN ISO); norme CEN (UNI EN); norme UNI. Riferiscono infine come procedere nella redazione e nella lettura di una norma e si soffermano a sottolineare la differenza tra normazione e certificazione: la norma specifica i requisiti da rispettare mentre la certificazione assicura che realmente quel particolare prodotto, o quella precisa attività, rispetta i requisiti della norma.

Parole chiave: normazione, organismi di normazione, redazione e lettura di una norma

SUMMARY

The authors report the definition of “rule” (rule, general precept that we must unify), “to standardize” (activity or discipline of making compliance with the standard), “regulations” (set of rules regarding a sector or a particular discipline), “standardization” (special kind of the public function to produce, through appropriate legal acts of general and abstract legal rules that make the legal system itself); ‘standard’ (a technical specification approved by a recognised standardisation body for repeated or continuous application, with which compliance is not compulsory). The Organizations for Standardization may be supranational (such as ISO, IEC, ITU-T), European (such as CENE-

LEC) Italian (such as UNI, CEI). The rules available to the Italian user are; standards not adopted at national level (ISO), standards adopted at national level (UNI ISO), ISO standards adopted by CEN and consequently adopted at national level (UNI EN ISO); CEN standards (UNI EN), and UNI standards. The authors report how to relate in writing and reading of a rule and emphasize the difference between standardization (which specifies the requirements to be met) and certification (which insures that truly that particular product or the activity meets the requirements of the norm).

Keywords: standardization, Organizations for Standardization, writing and reading of a rule

MILK PROTEIN GENETIC COMBINATIONS, MINERAL COMPOSITION AND RENNET-COAGULATION PROPERTIES OF THE MILK

COMBINAZIONI GENETICHE DELLE PROTEINE, COMPOSIZIONE MINERALE E PROPRIETÀ DI COAGULAZIONE DEL LATTE

Marchini Costanza¹, Malacarne Massimo¹, Franceschi Piero¹, Formaggioni Paolo¹, Summer Andrea¹, Mariani Primo¹

SUMMARY

The quality of the milk plays an important role for dairy products made from raw milk as Parmigiano-Reggiano and Grana Padano cheeses. In this sense, the aptitude to rennet-coagulation sets the starting point for cheesemaking process. The qualitative and quantitative changes of casein affect of rheological properties of the curd. The casein at the native state is highly hydrated micelle form which formation involved colloidal phosphate. The mineral fractions is primary in building stability micelles. The salt equilibria influence the composition of the cheese, with possible impact on the texture. Even the genetic factors contribute in determining the coagulation characteristics. Recent studies have shown that the genetic improvement of the aptitude dairy is possible adopting specific objectives of genetic selection to increase the cheese yield efficiency. The more marked effects were observed for the K-Cn variants. The K-Cn BB genotype induce a less coagulation time, a higher curd firmness and a better syneresis of the curd than K-Cn AA. The production yields are higher significantly in K-Cn BB milk rather than K-Cn AA and AB milk. Also β -Cn B variant appears more favorable to clotting. The *CSN1S1* gene of α_{s1} -Cn has two common B and C alleles which effects on yield milk and casein content are contradictory. Referring to correlation between polymorphism and mineral component, it is found that K-Cn B milk has higher calcium, phosphorus and total phosphorus colloidal content. In particular it was shown that the milk characterized by the B variant for K-Cn, β -Cn and β -Lg has a better nitrogen composition than the variant A. The local breeds with low consistency and not-selected constitute a reservoir of rare alleles and originals gene combinations, when compared with

highly selected breeds. Studies of 30 cattle, taurine, and zebrine breeds showed a strongly casein haplotype distributions associated with the geographical area and with the alleles of *CSN1S1* and *CSN3* loci. Data present in literature suggest that in the genetic patrimony of these breeds there are some valuable characteristic that represent a richness that can contribute to confer an added value for dairy productions. The experimental evidences suggest that these valuable characteristics regard not only the particular casein distribution, but also can be determined by the particular repartition of the mineral components between the soluble and the colloidal phases.

KEYWORDS

Cow milk, protein polymorphism, rennet-coagulation, mineral component, autochthonous breeds

MILK QUALITY FOR CHEESEMAKING

Italian cheese production (1,141,500 tons per year) represent an important quota (14,3%) of entire European Union production [Pieri, 2008]. About 75% of the Italian milk is destined to cheese making; the 55% of the total production is processed for PDO (Protected Designation of Origin) cheeses. They are mostly products made from raw milk, with a traditional cheesemaking technology and with a long ripening period [Battistotti, 1994]. Grana Padano and Parmigiano-Reggiano are the most important, but a large number of locally-made cheeses are produced in each Italian region. Milk quality plays an important role in these productions; the most important requirement is the aptitude to rennet-coagulation [Carlson et al., 1987; Pecorari and Mariani, 1990]. In fact, good conditions of milk reactivity with rennet, curd formation rate and curd firmness, as well as curd syneresis, have a positive effect on the entire cheesemaking process and on the ripening development of the cheese [Mariani and Battistotti, 1999].

Rennet-coagulation properties are affected by a wide variety of physical-chemical parameters, such as titratable acidity [Formaggioni et al., 2001], somatic cell count, protein and casein contents, calcium and phosphorus concentrations [Summer et al., 2002] as well as environmental and physiological factors, such as average days in milk (DIM), age of cow, and month of sampling, season, and feeding system [Verdier-Metz et al., 1998].

ROLE OF THE MINERAL COMPONENT

The quanti-qualitative variations of the casein affect the rheological characteristics of the curd, with effects more important if coagulation is of rennet type. The casein at the native state (phosphocaseinate of calcium and magnesium) is constituted by micelles highly hydrated, to which formation participates the colloidal phosphate (phosphate-citrate of calcium and magnesium) [Schmidt, 1982]. The colloidal calcium phosphate intimately associated to the phospho-protein is essential for the construction and the stability of the micellar system [McGann and Pyne, 1960]: it determines the aggregation of the submicelles [Schmidt, 1982] affecting, in part, also the size of micelle aggregates. The chemical-physical status of the whole micellar system plays a determining role for the rheological properties of the curd [Resmini, 1971]. The colloidal calcium phosphate exercises, directly or indirectly, an important action in all phases of the coagulation process [Green et al., 1978], with particular reference to the development of the secondary phase, of physico-chemical nature [Mariani and Pecorari, 1987]. The peculiar salts equilibria of the micelles affect the composition of the cheese, with possible repercussions on the texture and on the rheological characteristics of the finished product. In numerous studies it has been evidenced that the mineral content is involved in the phenomenon of the milks characterised by anomalous coagulation, or that do not coagulate in the technical time of 30 minutes of the lactodynamographical analysis. In these milks, in fact, a lower content of total calcium and phosphorus was found, and, in particular, of colloidal calcium and phosphorus [Pecorari et al., 1984; Van Hooydonk et al., 1986]. More recently Tyriseva et al. [2004], in a study of Finnish Ayrshire cows, have observed 30% non-reactive milks : the authors suggest the genetic origin phenomenons, confirming what reported by Ikonen et al. [1999] and have suggested a possible role of mineral as a cause of this anomaly.

ROLE OF GENETIC FACTORS ON MILK QUALITY

Genetic factors play an important role in defining milk quality for cheesemaking [Ng-Kwai-Hang and Grosclaude, 2003]. Wide variation in milk quality and coagulation properties occurs among different breeds [Macheboeuf et al. 1993; Rando et al., 1998; Auldism et al., 2002; Mistry et al., 2002; Malacarne et al., 2006; De Marchi et al., 2007] and different cows within the same breed [Bittante et al., 2002; Auldism et al., 2004].

Genetics and selection have a strong impact on milk yield and quality: but in the last years the breeding programs, mainly focused on improving milk yield caused a general worsening of rennet-coagulation properties [Mariani et al., 1992; Sandri et al., 2001]. Recent studies have shown that genetic improvement of rennet-coagulation properties is feasible using specific breeding objectives [Ojala et al., 2005] and the additive genetic variance of rennet-coagulation properties traits was estimated to be about 30-40% [Ikonen et al., 1997; Bittante et al., 2002] of the total variation. Recently Cassandro et al. [2008] reported a strong genetic correlation between a_{30} and protein and casein content, as well as between rennet-coagulation properties traits and somatic cell count, pH and titratable acidity in Italian Friesian cows.

However, the genetic improvement of rennet-coagulation properties, aimed to increase the efficiency of cheese production, can be achieved not only by inserting this trait in routine evaluation of milk quality and in breeding program, but also by increasing the frequency of those alleles associated with better coagulation of milk by means of marker-assisted selection [Boettcher et al., 2004].

MILK PROTEIN POLYMORPHISM: RENNET-COAGULATION EFFECTS

Casein polymorphism plays a very particular role in the complex picture of milk quality, because of both qualitative variations - due to the nature of single genetic mutation - and quantitative ones - due to the different expression capacity of the alleles that control the synthesis of the specific caseins [Grosclaude, 1988]. It is well known that concentration of β -lactoglobulin is higher in milk with the AA genotype than with AB or BB, which results in a lower Cn number in AA milk [Mariani et al., 1979; Van Den Berg et al., 1992; Lunden et al., 1997]; consequently β -Lg BB milk leads to a higher cheese yield. In particular, casein polymorphism is known as factor affecting milk composition, both because of the qualitative variation, related to single gene mutations, and the quantitative variation, concerning the differences in allele expression implicated in milk protein synthesis [Ikonen et al., 1997].

The most relevant effects have been found for the K-Cn allelic variants, which have been associated with variation in total casein and K-Cn concentrations of milk [Mariani et al., 1976; Schaar et al., 1985; Ng-Kwai-Hang et al., 1986; Van Den Berg et al., 1992; Law et al., 1994; Bobe et al., 1999], variation in

micelle size [Walsh et al., 1998] and differences in coagulating properties. The genotype K-Cn BB shows a lower clotting time, a higher curd firmness due to a more uniform texture and a better expulsion of the whey [Losi et al., 1973; Mariani et al., 1976; Davoli et al., 1990; Amigo et al., 2001; Comin et al., 2008]; moreover, it shows a better aptitude to curd formation, and casein reticulum is more firm and elastic than K-Cn A one [Mariani and Pecorari, 1991; Lodes et al., 1996]. Cheese yield is increased significantly in K-Cn BB milk compared to K-Cn AA and AB in the production of Parmigiano-Reggiano, Cheddar and Camembert cheeses [Mariani et al., 1976; Morini et al., 1979; Marziali and Ng-Kwai-Hang, 1986a; Rahali and Ménard, 1991]. This is due to a better retention of the proteins [Schaar et al., 1985; Rahali and Ménard, 1991] and to a better incorporation of the fat in the curd and consequent lower fat and protein losses in the whey [Marziali and Ng-Kwai-Hang, 1986b; Rahali and Ménard, 1991]. The E allele, one of the most diffused together A and B, has been related to unfavorable milk clotting properties [Oloffs et al., 1992; Jakob, 1993; Lodes et al., 1996; Ikonen et al., 1999a; Caroli et al., 2000]. Also β -Cn B variant is more favourable for rennet-coagulation; β -Cn BB milks have lower clotting time and shows better coagulation properties, both for curd firming time and for curd firmness [Mariani et al., 1986; Mariani et al., 1992]. So, milks characterised by B variants of β -Lg, K-Cn and β -Cn, present a nitrogen composition and/or rennet-coagulation properties that are better with respect to those characterised by A types and, therefore, are more favourable for the cheesemaking [Schaar et al., 1985; Marziali and Ng-Kwai-Hang, 1986a; Marziali and Ng-Kwai-Hang, 1986b; McLean, 1986; Ng-Kwai-Hang et al., 1986; Rahali and Ménard, 1991; Van Den Berg et al., 1991; Mariani et al., 1992; Lodes et al., 1996; Lundén et al., 1997; Coulon et al., 1998; Walsh et al., 1998; Ikonen et al., 1999]. *CSN1S1* gene of α_{s1} -Cn shows low polymorphism and the two most common alleles, B and C, whose effect on milk and protein yield and protein percentage, not deeply investigated, are conflicting [Grosclaude, 1988; Lodes et al., 1996; Ng-Kwai-Hang and Grosclaude, 2003]. The rare G allele, due to its reduced gene expression, has shown to have a strong impact on protein fraction composition, and the genotype GG is associated to a severe reduction in α_{s1} -Cn content (55%) [Mariani et al., 1995; Rando et al., 1998].

Due to the tight linkage among the casein loci, some authors investigated the whole casein complex in association studies by which they evaluated the effects of the composite genotype on the milk production traits [Ikonen et al., 1999b; Caroli et al., 2004; Molina et al., 2006; Keating et al., 2007] and

even on casein macropeptide [Pagnacco and Caroli, 1987; Hallen et al., 2007; Comin et al., 2008], in spite of the effect of single locus genotypes.

MILK PROTEIN POLYMORPHISM: MINERAL COMPONENT EFFECTS

From the elements described above, it's clear that the influence of milk protein polymorphism on nitrogen fraction composition, micelle size, rennet-coagulation properties and cheese yield was extensively studied, evidencing the effects that each genetic variant can have on cheesemaking process. Conversely, literature concerning the effects of casein variants and whey proteins on mineral component and on salt equilibria is very poor, and often concerns goat. As far as the cattle, above all studies are focused on different aspects, which among other constituents consider also mineral component: Mariani et al. [1976; 1979] find that K-Cn B milk is characterised by higher contents of total and colloidal calcium and phosphorus contents and lower contents of citric acid. Mariani et al. [1979] and Van Den Berg et al. [1992] observe that K-Cn B is correlated to higher concentrations of ionic calcium; Delacroix-Buchet and Marie [1994] find that β -Cn A milk has a significantly higher content of total and colloidal calcium and lower of soluble calcium regarding milks with β -Cn C; in a study relative to the α_{s1} -Cn G, variant called "low- α_{s1} " because related to a reduced capacity of expression of α_{s1} -Cn allele (50% less of α_{s1} -Cn), Mariani et al. [1996] find that milk containing this variant is characterized from lower contents of total calcium and phosphorus regarding milk with α_{s1} -Cn B; Dall'Olio et al. [2001], find that milks with α -La (+15) A/A, regarding the milks B/B, have a higher content of total Ca and P and colloidal Ca and P. Other researches, more numerous and more specific, regard goat milk and confirm the influence of milk protein genetic polymorphism on salt equilibria in the milk of this species [Remeuf, 1993; Pierre et al., 1995; Tzi-boula e Horne, 1999; Malacarne et al., 2005].

In particular, the milk of K-Cn, β -Cn and β -Lg B variant is characterized by a better nitrogen composition for rennet properties than the A variant of the same proteins [Mariani et al., 1999; Caroli et al., 2009]. Furthermore, the milk of Italian Brown cows resulting from phenotypic combinations (alf α_{s1} _beta_kappa) BB_BB_AB showed higher content of P and K [Malacarne et al., 2010].

AUTOCHTHONOUS BREEDS WITH LIMITED DIFFUSION: PRECIOUS RESERVOIR OF GENES

The Regulation of most PDO cheeses does not have limitation of breed for the production of the milk. For this reason, in the production areas, various cattle breeds are reared, different from the original ones that were employed in the past centuries; this was the destiny of Reggiana, Modenese (also named Bianca Val Padana), Modicana and Cinisara. These autochthonous breeds suffered in the previous decades a strong numerical contraction. On 1985 it has been instituted the Identifying Registry of the autochthonous cattle populations and ethnic groups with limited diffusion. Such registry was instituted in order to safeguard the cattle breeds threatened of extinction that are reared in Italy and for the safeguard of these genetic patrimonies.

At that time, among the others, were admitted also Cinisara, Modenese, Modicana e Reggiana. The Modenese, Modicana and the Cinisara, are still registered in the Identifying Registry of the autochthonous cattle populations and ethnic groups with limited diffusion, as decided from the “Italian Ministry of Agricultural, Food and Forestry Policies” with D.M. n.770 of the 13 January 2009. Mariani et al. [2001], in a research in which the cheesemaking aptitude of the milk produced from 4 cattle breeds present in the Parmigiano-Reggiano production area (Italian Friesian, Italian Brown, Reggiana and Modenese) was compared, evidenced that the milk of these breeds showed a marked difference in the salt equilibria and in the degree of mineralisation of the casein micelles.

Together with these aspects regarding the mineral components, also a different behaviour of these milk towards rennet-coagulation was evidenced, factor related not only with the different distribution of caseins, but also with the different repartition of calcium, phosphorus, magnesium and citric acid between the soluble and the colloidal phases. Local small sized and unselected breeds are reservoir of rare alleles and original combination of genotypes in comparison with the cosmopolitan and highly selected breeds; Jann et al. [2004] in a study on 30 taurine and indicine breeds, highlighted a geographically associated distribution of casein haplotypes, mainly defined by *CSN1S1* and *CSN3* alleles. Data present in literature suggest that in the genetic patrimony of these breeds there are some valuable characteristic that represent a richness that can contribute to confer an added value for dairy productions. The experimental evidences suggest that these valuable characteristics regard not only the particular casein distribution, but also can be determined by the particular repartition of the mineral components between the soluble and the colloidal phases.

The knowledge of the favourable influence of certain genetic combinations, and unfavourable of others, is essential for being able to point out a strategy of recovery and selection of these breeds, in the light of a more articulated and consisting valorisation program of their milk. A contemporary comparison with the genetic combinations of the Italian Brown breed, a more diffuse breed, and on their effects on the mineral content and on the coagulation properties, can be useful as a “control” in order to evidence which are effectively the peculiarities and the characteristics of added value carried by the autochthonous breeds.

The analysis of the variability and the distribution of composite genotypes and haplotypes in 4 Italian autochthonous cattle breeds, as well as in Italian Brown, used as reference, will allow the evaluation of the effect of the casein alleles and different haplotypes on the clotting properties and in particular on the mineral content and salt equilibria of milk destined to cheesemaking. On the basis of genetic differences at five loci coding for the structural main milk proteins (α -La, β -Lg, α_{s1} -, β - and K-Cn) can provide a key to the milk quality [Pieragostini et al., 2002]. Methods of multivariate analysis were used to test the relationships between 22 Italian cattle breeds on the basis of frequencies of 16 to milk protein loci and genetic variants of the main casein haplotypes (α_{s1} -, β - and K-Cn) [Tab. 1].

Breed	Haplotypes																												
	B ₁ A ₁ B	B ₁ A ₂ B	B ₁ A ₃ B	B ₁ A ₄ B	B ₁ A ₅ B	B ₂ A ₂ C	B ₁ A ₁ A	B ₁ B	B ₂ A	B ₁ C	B ₂ C	C ₁ A ₁ B	C ₁ A ₂ B	C ₁ A ₃ B	C ₁ A ₄ B	C ₁ A ₅ B	C ₂ A ₁ B	C ₂ A ₂ B	C ₂ A ₃ B	C ₂ A ₄ B	C ₂ A ₅ B	C ₃ A	C ₃ B	C ₃ C	D ₁ A ₁ B	D ₁ A ₂ B			
<i>Bruna</i>	0.1373	0.0433	0.1978	0.2224	—	—	0.1444	0.1523	0.0002	0.0223	0.0002	0.0017	0.0518	0.0205	—	0.0058	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Burflina</i>	0.4245	0.2184	0.1061	0.1388	—	—	0.0458	—	—	0.0917	—	—	—	0.1795	0.0788	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Chianina</i>	0.0501	0.4082	0.0829	0.0630	—	—	0.0072	0.0370	—	0.0055	—	—	0.1036	0.0870	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Chisara</i>	0.1133	0.2237	0.2124	0.2103	—	—	—	0.0118	—	0.0024	0.0035	—	0.0112	0.0090	0.0024	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Frisona</i>	0.3738	0.1796	0.3532	0.0531	—	—	—	0.0492	—	0.0057	0.0852	0.1515	—	—	—	0.0020	0.0141	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Grigio Alpina</i>	0.0480	0.1062	0.2307	0.1346	0.0112	0.0029	0.1486	0.0097	—	—	—	—	0.0701	0.0777	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Modenese</i>	0.2032	0.0436	0.2014	0.1183	—	—	0.1212	0.1126	—	0.0439	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Modicana</i>	0.0607	0.2197	0.0785	0.2551	—	—	—	0.0110	—	—	—	—	0.0044	0.1370	0.2272	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.0057
<i>P.R.d'Uropa</i>	0.0115	0.2373	0.3181	0.1905	—	—	0.0565	0.0538	—	0.0249	—	—	0.0012	0.0257	0.0760	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Piemontese</i>	0.1422	0.1344	0.2373	0.1150	—	—	0.0841	0.0627	0.0018	0.0327	0.0243	0.0006	0.0370	0.1241	0.0023	0.0002	0.0002	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.0023
<i>Pinzano</i>	0.2632	0.0173	0.2765	0.0807	—	—	0.2050	0.0039	—	0.0707	0.0038	0.0001	0.2208	0.0334	—	0.0063	0.0001	0.0090	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Podolica P.</i>	0.1103	0.1649	0.1187	0.1963	—	—	0.0196	0.0217	—	—	—	—	0.0305	0.0699	0.2606	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Reggiana</i>	0.0111	0.2118	0.2283	0.0943	—	—	0.1704	0.0821	—	0.0101	0.0346	0.0455	—	0.1017	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.0101
<i>Romagnola</i>	0.1480	0.3268	0.1021	0.1872	—	—	0.0537	0.0293	—	—	—	0.0250	0.0067	0.1114	—	0.0040	0.0041	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.0247
<i>Tarina</i>	0.1215	0.1443	0.2863	0.1835	—	—	0.0214	0.0608	0.0610	0.0390	—	0.0013	0.0002	0.0643	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Valdostana P.N.</i>	0.0249	0.0852	0.2142	0.1433	—	—	0.0642	0.3506	—	—	—	—	0.0112	0.0958	—	0.0008	0.0079	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.0019
<i>Valdostana P.R.</i>	0.0300	0.0877	0.2730	0.4620	—	—	0.0190	0.0260	—	0.0021	0.0033	0.0061	0.0077	0.0693	—	0.0031	0.0056	0.0007	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Vorzese</i>	0.0660	0.1392	0.1873	0.1530	—	—	0.2246	0.0557	—	—	0.0600	—	—	0.0911	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tab.1: Frequencies of α_{s1} -Cn, β -Cn and K-Cn casein haplotypes

Analysis of components has allowed to clearly separate the group Podolica, a second group of breeds of Northern Italy, and the third comprising Burlina and Frisona [Fig 1].

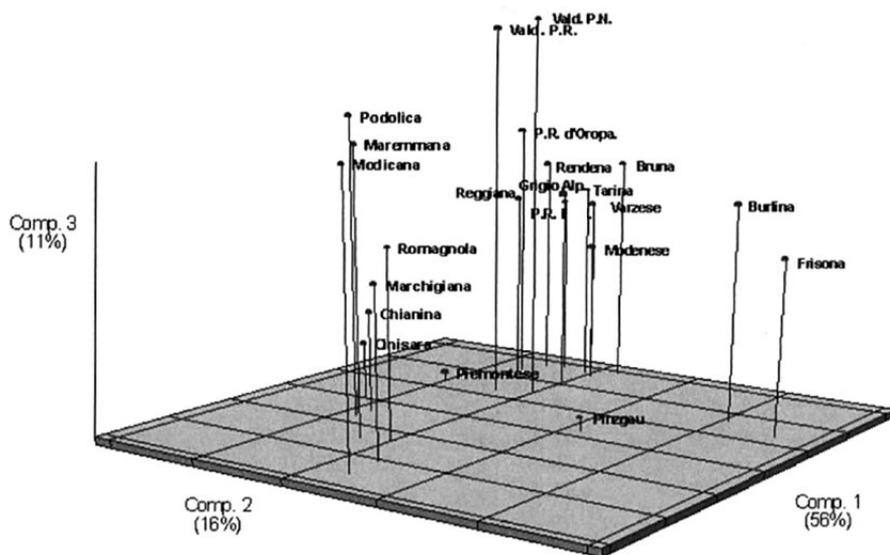


Fig.1: Principal Component Analysis among breeds as applied to the distances assessed on the 16 alleles at five lactoprotein loci (Vald.P.N. = Valdostana Pezzata Nera; Vald.P.R.= Valdostana Pezzata Rossa; P.R. d'Oropa= Pezzata Rossa D' Oropa; P.R. Ital.= Pezzata Rossa Italiana; Comp= Component)

A strong correlation was also observed between the haplotype C (α_{s1} -Cn) - A₂ (β -Cn) - B (K-Cn) and the percentage content of fat and milk protein [Fig. 2].

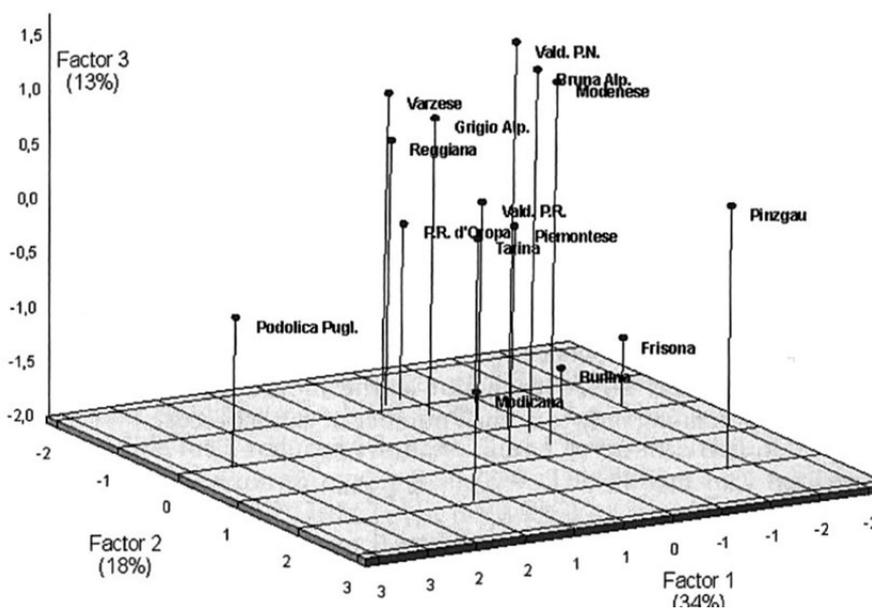


Fig.2: Factor Analysis among breeds as applied to the casein haplotypes, whey-protein loci, milk protein and fat percentage (Vald.P.R.= Valdostana Pezzata Rossa; P.R. d'Oropa= Pezzata Rossa D'Oropa; P.R. Ital.= Pezzata Rossa Italiana; Factor= Fattore)

The three-dimensional graph describes the distribution of the different races in space. Discrimination on the first factor, due both to the weight of the protein, both the percentage of fat to the combination CA_2B , separates the races primigenius appointed Podolica and Modicana from those brachyceros arranged at different levels, the Frisona and Burlina are positioned at the end. The second factor discriminates primarily for the function of the system β -lactoglobulin and partially for the changes induced by the combination CA_2A identifying a positional shift from Modicana and Pinzgau towards Pezzata Rossa d'Oropa and Grigio Alpina. Along the third factor the breeds are separated on the basis of β -K-casein segments of casein cluster, the BBA and BBB haplotypes arranging breeds in a positive area, while BA_1B haplotype drag to a negative area. Considering only the first and the third factor [Fig. 3] result that the distance between Podolica and Modicana breeds exists for mainly influence CA_2B haplotype if compared to the other variables [Table 1].

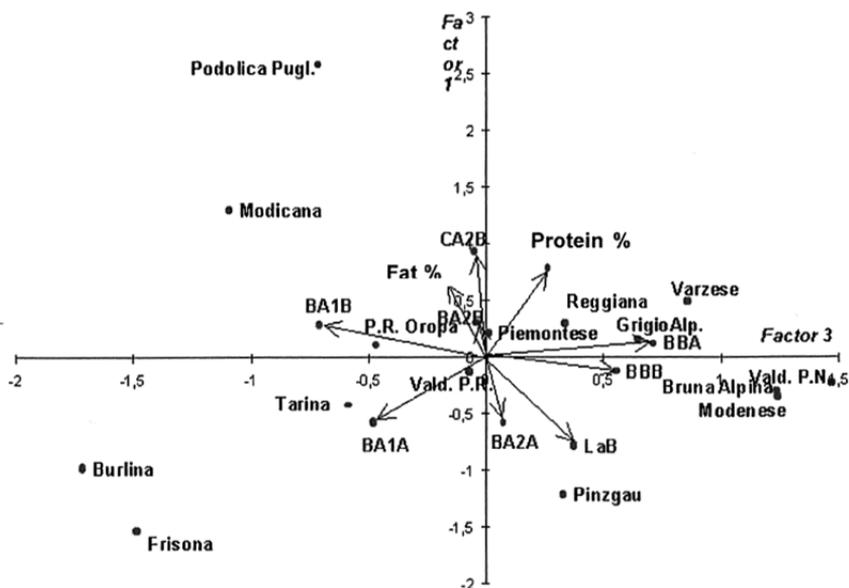


Fig.3: Graphical of correlation coefficients between weight variables on factor 1 and factor 3 and the relative breed positions (Grigio Alp.= Grigio Alpina; Vald.P.R.= Valdostana Pezzata Rossa; P.R. d'Oropa= Pezzata Rossa D' Oropa; La= α -La; Factor= Fattore)

Similarly, the haplotype BA₁A makes Burlina and Frisona breeds in that position. For the influence of BBA and BBB haplotypes Modenese, Brown and Valdostana Pezzata Nera can be found in the lower right quadrant. The positions of the intermediate Reggiana, Valdostana Pezzata Rossa and Piemontese breeds may be the result of a combination forces, which demonstrate a well-balance between casein haplotypes. Comparing the genetic relationships inter-breed in figure 1 with milk proteins properties produced by individual breeds in figure 2, we can state that are overlap, marking the close correlation between biological and genetic characteristics of the breed and milk quality produced. Concluding that the traditional cheesemaking can not be separated from the origin and genetic evolution of local breeds from which the milk is taken for processing.

CONCLUSION

One of the most important aims of this study will be elucidate the relation between protein genetic polymorphism and the mineral component of the milk in the bovine breeds. This aspect has been marginally and partially treated, the minerals and salt equilibria influence composition structure and size micelle and therefore on the rennet-coagulation process. In particular, the knowledge on the repartition of calcium, phosphorus, magnesium and citrate, between the soluble and the colloidal phases of the milk can supply important information on micellar system composition. For the role that minerals, and especially colloidal calcium phosphate can exert on micelle properties and consequently on cheesemaking process.

REFERENCE

1. Amigo L., Martin-Alvarez P. J., Garcia-Muro E., Zarazaga I. (2001). Effect of milk protein haplotypes on the composition and technological properties of Fleckvieh bovine milk. *Milchwissenschaft*, 56 :9, 488-491.
2. Auldism M., Mullins C., O'Brien B., O' Kennedy B.T., Guinee T. (2002). Effect of cow breed on milk coagulation properties. *Milchwissenschaft*, 57, 140-143.
3. Auldism M., Johnston K.A., White N.J., Fitzsimans W.P., Boland J. (2004). A comparison of the composition, coagulation characteristics and cheesemaking capacity of milk from Friesian and Jersey dairy cows. *Journal of Dairy Research*, 71, 51-57.
4. Battistotti B. (1994). Il latte per i formaggi a denominazione di origine protetta. *Atti Convegno "Un alimento antico in viaggio verso il futuro"*, 65-70, Ed. MAF Servizi, Torino.
5. Bittante G., Marusi M., Cesarini F., Pavinelli M., Cassandro M. (2002). Genetic analysis on rennet-coagulation ability in Italian Holstein cows. *Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, Montpellier, France, 19-23 August.
6. Bobe G., Beitz D.C., Freeman A.E., Lindberg G.L. (1999). Effect of milk protein genotypes on milk protein composition and its genetic parameter estimates. *Journal of Dairy Science*, 82 :12, 2797-2804.
7. Boettcher P.J., Caroli A., Stella A., Chessa S., Budelli E., Cavanesi F., Ghiraldi S., Pagnacco G. (2004). Effects of casein haplotypes on milk production traits in Italian Holstein and Brown Swiss cattle. *Journal of Dairy Science*, 87:12, 4311-4317.
8. Carlson A., Hill C.G. Jr. Olson N.F. (1987). The kinetics of milk coagulation: IV. The kinetics of the gel-firming process. *Biotechnology and Bioengineering*, 29, 612-624.
9. Caroli A., Bolla P., Budelli E., Barbieri G., Leone P. (2000). Effect of kappa-casein E allele on clotting aptitude of Italian Friesian milk. *Zootecnica e Nutrizione Animale*, 26:3, 127-130.
10. Caroli A., Chessa S., Balla P., Budelli E., Gandini G.C. (2004). Genetic structure of milk protein polymorphisms and effects on milk production traits in a local dairy cattle. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 121:2, 119-127.
11. Caroli.A., Chessa S., Erhardt G.J. (2009). Milk protein polymorphisms cattle: effect on animal breeding and human nutrition. *Journal of Dairy Science*, 92:11, 5335-5352.

12. Cassandro M., Comin A., Ojala M., Zotto R., Dal Marchi M., De Gallo L., Carnier P., Bittante G. (2008). Genetic parameters of milk coagulation properties and their relationships with milk yield and quality traits in Italian Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 91:1, 371-376.
13. Comin A., Cassandro M., Chessa S., Ojala M., Zotto R., De Marchi M., Carnier P., Gallo L., Pagnacco G., Bittante G. (2008). Effects of composite beta- and kappa-casein genotypes on milk coagulation, quality, and yield traits in Italian Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 91:10, 4022-4027.
14. Coulon J.B., Hurtaud C., Remond B., Verité R. (1998). Factors contributing to variation in the proportion of casein in cows' milk true protein. *Productions Animales*, 11:4, 299-310.
15. Dall'Olio S., Davoli R., Mariani P., Summer A., Tirelli A., Milc J., Russo V. (2001). Composizione chimica e ripartizione delle caseine e delle sieroproteine del latte di vacche di razza Frisona Italiana con diverso genotipo per il polimorfismo +15 del gene α -lattoalbumina. *Scienza e Tecnica Lattiero-Casearia*, 52, 115-126.
16. Davoli R., Dall'Olio S., Russo V. (1990). Effect of kappa-casein genotype on the coagulation properties of milk. *Journal of Animal Breeding Genetics*, 107:6, 458-464.
17. Delacroix-Buchet A., Marie C. (1994). Comparaison des variants A et C de la caséine beta: des laits de vaches Tarentaises en modèle fromager de type Beaufort. 1. Aptitudes fromagères et rendements en frais. *Lait*, 74, 343-360.
18. De Marchi M., Zotto R., Cassandro M., Bittante G. (2007). Milk coagulation ability of five Dairy Cattle Breeds. *Journal of Dairy Science*, 90, 3986-3992.
19. Formaggioni P., Malacarne M., Summer A., Fossa E., Mariani P. (2001). Milk with abnormal acidity. The role of phosphorus content and the rennet-coagulation properties of Italian Friesian herd milk. *Annali Facoltà di Medicina Veterinaria Università di Parma*, 21, 261-268.
20. Green M.L., Hobbs D.G., Morant S.V., Hill V.A. (1978). Intermicellar relationships in rennet-treated separated milk. II. Process of gel assembly. *Journal of Dairy Research*, 45, 413-422.
21. Grosclaude F. (1988). Le polymorphisme génétique des principales lactoprotéines bovines. Relations avec la quantité, la composition et les aptitudes fromagères du lait. *INRA Produzioni Animali*, 1, 5-17.
22. Hallen E., Allmere T., Noslund J., Audreu A., Lunden A. (2007). Effect

- of genetic polymorphism of milk proteins on rheology of chymosin induced milk gel. *International Dairy Journal*, 17:7, 791-799.
23. Ikonen T., Ojala M., Syvaaja E. (1997). Effects of composite casein and β -lactoglobulin genotypes on renneting properties and composition of bovine milk by assuming on animal model. *Agricultural and Food Science in Finland*, 6, 283-294.
 24. Ikonen T., Ahlfors K., Kempe R., Ojala M., Ruottinen O. (1999a). Genetic parameters for the milk coagulation properties and prevalence of non-coagulating milk in Finnish dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 82:1, 205-214.
 25. Ikonen T., Ojala M., Ruottinen O. (1999b). Associations between milk protein polymorphism and first lactation milk production traits in Finnish Ayrshire cows. *Journal of Dairy Science*, 82:5, 1026-1033.
 26. Jakob E. (1993). Relationships between genetic polymorphisms of milk proteins and the rennetability of milk. Thesis ETH, Eidgenossische, Technische, Hochschule, Zürich, 10224, 13, 220.
 27. Jann O.C., Ibeagha-Awemu E.M., Ozbeyoz C., Zaragoza P., Williams J.L., Ajmone-Marson P., Lenstra J.A., Moazami-Goudarzi K., Erhardt G. (2004). Geographic distribution of haplotype diversity of the bovine casein locus. *Genetics, Selection, Evolution*, 36:2, 243-257.
 28. Keating A.F., Davoren P., Smith T.J., Ross R.P., Cairns M.T. (2007). Bovine K-casein gene promoter haplotypes with potential implications for milk protein expression. *Journal of Dairy Science*, 90:9, 4092-4099.
 29. Law A.J.R., Leaver J., Banks J.M., Horne D.S. (1994). The effect of K-casein genotype on the composition of whole casein. IDF, International Dairy Federation, Brussels, Belgium, 9402, 134-141.
 30. Lodes A., Krause I., Buchberger J., Aumann J., Klostermeyer H. (1996). The influence of genetic variants of milk proteins on the compositional and technological properties of milk. II. Rennet coagulation time and firmness of the rennet curd. *Milchwissenschaft*, 51, 543-548.
 31. Losi G., Capella P., Castagnetti G.B., Grazia L., Zambonelli C., Mariani P., Russo V. (1973). Influenza delle varianti genetiche della caseina K sulla formazione e sulle caratteristiche della cagliata. *Scienze e Tecnologie Alimentari*, 3, 373-376.
 32. Lundén A., Nilsson M., Janson L. (1997). Marked effect of β -lactoglobulin polymorphism on the ratio of casein to total protein in milk. *Journal of Dairy Science*, 80:1, 2996-3005.
 33. Mistry V.V. (2002). Manufacture and application of high milk protein

- powder. *Lait*, 82:4, 515-522.
34. Macheboeuf D.J.B., Coulon P., Hour D.(1993). Effect of breed, protein genetic variants and feeding on cows milk coagulation properties. *Journal of Dairy Science*, 60, 43-54.
 35. Malacarne M., Summer A., Formaggioni P., Franceschi P., Beltrami A., Mariani P. (2005). Seasonal variations of herd milk quality for Parmigiano-Reggiano cheese manufacture: comparison between Jersey and Italian Friesian cattle breeds. *Annali della Facoltà di Veterinaria*, 25, 145-166.
 36. Malacarne M., Summer A., Fossa E., Franceschi P., Pecorari M., Mariani P. (2006). Composition coagulation properties and Parmigiano-Reggiano cheese yield of Italian Brown and Italian Friesian herd milks. *Journal of Dairy Research*, 73:2, 171-177.
 37. Malacarne M., Summer A., Franceschi P., Formaggioni P., Sabbioni A., Superchi P., Mariani P. (2010). Effects of phenotypic combination of protein on some processing properties of milk. *Scienza e Tecnica Lattiero Casearia*, 61:2, 67-79.
 38. Mariani P., Losi G., Russo V., Castagnetti G.B., Grazia L., Morini D., Fossa E. (1976). Prove di caseificazione con latte caratterizzato dalle varianti A e B della K-caseina nella produzione del formaggio Parmigiano-Reggiano. *Scienza e Tecnica Lattiero-Casearia*, 27, 208-227.
 39. Mariani P., Losi G., Morini D., Castagnetti G.B. (1979). Il contenuto di acido citrico nel latte di vacche con genotipo diverso nel locus K-caseina. *Scienza e Tecnica Lattiero-Casearia*, 30:5, 375-384.
 40. Mariani P., Meazza M., Resmini P., Pagani M.A., Pecorari M., Fossa E. (1986). Osservazioni su tipi di beta-caseina e caratteristiche di coagulazione del latte. *L'Industria del Latte*, 22:1, 35-58.
 41. Mariani P., Pecorari M. (1987). Fattori genetici, attitudine alla caseificazione e resa del latte in formaggio. *Scienza e Tecnica Lattiero-Casearia*, 38, 286-326.
 42. Mariani P., Pecorari M. (1991). Il ruolo delle varianti genetiche della K-caseina nella produzione del formaggio. *Scienza e Tecnica Lattiero-Casearia*, 42, 255-285.
 43. Mariani P., Zanzucchi G., Bonatti P., Fossa E., Pecorari M. (1992). Caratteristiche di coagulazione del latte in rapporto al tipo genetico della beta-caseina in vacche di razza Bruna. *Scienza e Tecnica Lattiero-Casearia*, 43, 7-17.
 44. Mariani P., Summer A., Anghinetti A., Senese C., Di Gregorio P., Rando A., Serventi P. (1995). Effetti dell'allele alfa_{s1}-Cn G sulla ripartizione

- percentuale delle caseine alfa_{s1}, alfa_{s2}, beta e K in vacche di razza Bruna. *Industria Latte*, 31:4, 3-13.
45. Mariani P., Summer A. (1999). Polimorfismo delle proteine ed attitudine tecnologico-casearia del latte. Relazione 3° Meeting “Produzione del latte: contributo delle biotecnologie nel miglioramento qualitativo” Udine, 2 ottobre.
 46. Mariani P., Battistotti B. (1999). Milk quality for cheesemaking. Recent progress in animal production science 1. Congress ASPA 13, Piacenza, Italy, 499-516.
 47. Mariani P., Summer A., Formaggioni P., Malacarne M., Battistotti B. (2001). Rilievi sui principali requisiti tecnologico-caseari del latte per la produzione di formaggio grana. *Scienze e Tecnica Lattiero-Casearia*, 52, 49-91.
 48. Marziali A.S., Ng-Kwai-Hang K.F. (1986a). Relationships between milk protein polymorphism and cheese yielding capacity. *Journal of Dairy Science*, 69, 1193-1201.
 49. Marziali A.S., Ng-Kwai-Hang K.F. (1986b). Effects of milk composition and genetic polymorphism on cheese composition. *Journal of Dairy Science*, 69, 2533-2542.
 50. McGann T.C.A., Pyne G.T. (1960). The colloidal phosphate of milk. Nature of its association with casein. *Journal of Dairy Research*, 27, 403-417.
 51. McLean D.M. (1986). Influence of milk protein genetic variants on milk composition, yield and cheese making properties. *Animal Genetics*, 18(suppl. 1), 100-102.
 52. Molina L.H., Benovides T., Brito C., Carillo B., Molina I. (2006). Relationships between A and B variants of K-casein and β -lactoglobulin and coagulation properties of milk (Part II). *International of Dairy Technology*, 59:3, 188-191.
 53. Morini D., Losi G., Castagnetti G.B., Mariani P. (1979). Prove di caseificazione con latte caratterizzato dalle varianti A e B della K-caseina: rilievi sul formaggio stagionato. *Scienza e Tecnica Lattiero-Casearia*, 30, 243-262.
 54. Ng-Kwai-Hang K.F., Hayes J.F., Moxley J.E., Monardes H.G. (1986). Relationships between milk protein polymorphism and major milk constituents in Holstein-Friesian cows. *Journal of Dairy Science*, 69, 22-26.
 55. Ng-Kwai-Hang K.F., Grosclaude F. (2003). Genetic polymorphism of milk protein. *Advanced Dairy Chemistry Kluwer Academic*, 739-816.
 56. Ojala M., Tyriseva A.M., Ikonen T. (2005). Genetic improvement of milk

- quality traits for cheese production. Indicators of Milk and Beef Quality, 112, 307-311.
57. Oloffs K., Schulte-Coerne H., Pabst K., Gravert H.O. (1992). The significance of protein variants for genetic differences in cheesemaking properties of milk. *Züchtungskunde*, 64, 20-26.
 58. Pagnacco G., Caroli A. (1987). Effect of casein and β -lactoglobulin genotypes on renneting properties of milks. *Journal Dairy Research*, 54, 479-485.
 59. Pecorari M., Fossa E., Avanzini G., Mariani P. (1984). Il latte a coagulazione anomala: composizione chimica, acidimetria e osservazioni sul profilo metabolico delle vacche. *Scienza e Tecnica Lattiero-Casearia*, 35, 263-278.
 60. Pecorari M., Mariani P. (1990). Caseina, attitudine alla coagulazione del latte, resa e qualità del formaggio. *Scienza e Tecnica. Lattiero-Casearia*, 41, 225-244.
 61. Pieragostini E., Di Luccia A., Rullo R., Caroli A. (2002). Lactoprotein polymorphism in Italian cattle breeds. *l'industria del Latte*, 28, 17-31.
 62. Pieri R. (2008). Il mercato del latte. Rapporto 2008, 402 pp. Edizione Osservatorio Latte-Smea, Franco Angeli, Milano.
 63. Pierre A., Michel F., Le Graët Y. (1995). Variation in size of goat milk casein micelles related to casein genotype. *Lait*, 75, 489-502.
 64. Pierre A., Michel F., Le Graët Y., Zahoute L. (1995). Casein micelle size in relation with casein composition and α_{s1} , α_{s2} , β and K casein contents in goat milk. *Lait*, 78, 591-605.
 65. Rahali V., Ménard J.L. (1991). Influence des variants génétiques de la beta-lactoglobulin et de la K-caséine sur la composition du lait et son aptitude fromagère. *Lait*, 71, 275-297.
 66. Rando A., Di Gregorio P., Ramunno L., Mariani P., Fiorella A., Senese C., Marletta D., Masina P. (1998). Characterization of the *CSN1A^G* of the bovine α_{s1} -casein locus by the insertion of a relict of a long interspersed element. *Journal of Dairy Science*, 82:6, 1735-1742.
 67. Remeuf F. (1993). Lactoprotéines caprines et aptitudes technologiques. Influence du polymorphisme génétique de la caséine α_{s1} caprine sur les caractéristiques physico-chimiques et technologiques du lait. *Lait*, 73, 549-557.
 68. Resmini P. (1971). Struttura della micella caseinica e fenomeni connessi alla coagulazione presamica, con riferimento alla lavorazione del Parmigiano-Reggiano. In "atti corso aggiornamento produzione formaggio parmigiano-reggiano". Rapallo, 18-20 febbraio 1971.

69. Sandri S., Tosi F., Mariani P., Vecchia P., Malacarne M., Summer A. (2001). Observation on the trend of the main dairy-characteristics of Parmigiano-Reggiano cheese milk during the years 1990-2001. *Annali della Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Parma*, 21, 235-247.
70. Schaar J., Hansson B., Pettersson H.E. (1985). Effects of genetic variants of K-casein and beta-lactoglobulin on cheesemaking. *Journal of Dairy Research*, 52, 429-437.
71. Schmidt D.G. (1982). Association of caseins and casein micelle structure. In "Development in Dairy Chemistry", vol. I, General Aspects, 61-86 (Ed. P. F. Fox). Applied Science Publ., London, UK.
72. Summer A., Franceschi P., Martuzzi F., Mariani P. (2002). Structural and functional characteristics of Modenese cow milk in Parmigiano - Reggiano cheese production. *Annali Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Parma*, 22, 163-174.
73. Summer A., Malacarne M., Franceschi P., Bollini A., Formaggioni P., Tosi F., Mariani P. (2002). Variazioni stagionali delle caratteristiche del latte e perdite di caseificazione nella produzione di Parmigiano - Reggiano. *Atti Società Italiana delle Scienze Veterinarie*, 56, 456-466.
74. Tyrisevä A.M., Vahlsten T., Ruottinen O., Ojala M. (2004). Noncoagulation of milk in Finnish Ayrshire and Holstein-Friesian cows and effect of herds on milk coagulation ability. *Journal of Dairy Science*, 87, 3958-3966.
75. Tziboula A., Horne D.S. (1999). The role of α_1 -casein in the structure of caprine casein micelles. *International Dairy Journal*, 9, 173-178.
76. Van Den Berg G., Escher J.T.M., De Koning P.J., Bovenhuis H. (1992). Genetic polymorphism of K-casein and beta-lactoglobulin in relation to milk composition and processing properties. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 46, 145-168.
77. Van Hooydonk A.C.M., Hagedoorn H.G., Boerrigter I.J. (1986). The effect of various cations on the renneting of milk. *Netherlands Milk Dairy Journal*, 40, 369-390.
78. Walsh C.D., Guinee T.P., Reville W.D., Harrington D., Murphy J.J., O'Kennedy B.T., Fitzgerald R.J. (1998). Influence of K-casein genetic variant on rennet gel microstructure, Cheddar cheesemaking properties and casein micelle size. *International Dairy Journal*, 8:8, 707-714.
79. Verdier-Metz I., Coulon J.B., Pradel P., Viallan C., Berdagnè J.L. (1998). Effect of forage conservation (hay or silage) and cow breed on the coagulation properties of milks and on characteristics of ripened chesses. *International Dairy Research*, 35, 9-21.

FOOD LABELLING IN EUROPE: MANDATORY “COUNTRY OF ORIGIN” EXTENDED TO MORE FOODS

ETICHETTATURA DEGLI ALIMENTI NELL’UNIONE EUROPEA: L’OBBLIGATORIETA’ DEL PAESE DI ORIGINE ESTESA AD ALTRI ALIMENTI

D’Elia Giuliano¹, Alpigiani Irene¹, Bonardi Silvia¹, Bacci Cristina¹, Lanzoni Elisa¹,
Brindani Franco¹

Keywords: EU law, National law, food, labelling, country of origin.

ABSTRACT

Food labelling law has been recently amended by Regulation (EU) No. 1169/2011 of 25 October 2011 on the provision of food information to consumers. The new rules of the Regulation 1169/2011 are considered a compromise between the positions of the co-legislators and they dictate the mandatory extension of the origin to other type of food.

The topic has been often heatedly debated among all the stakeholders. Food producers and consumers associations support the new legislation and struggle against labelling indications which might mislead about the origin of the products. Food processing industries disagree with the extension of origin labelling, blaming the high cost, complexity of traceability and the effects on protectionism.

In Italy country-of-origin labelling (COOL) comes back – like a mantra – to the attention of the legislator.

Italian parliament adopted the last measure on labelling in 2011 through the

¹ Section of Food Inspection of the Department of Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Parma. Research PhD Course in “National and European Regulations on Food Safety”, directed by Prof. Franco Brindani.

Tel.0521/902683 – E-mail address: giuliano.delia@nemo.unipr.it

Law No. 4/2011, which made mandatory origin labelling of agricultural products.

After a brief historical and legal overview on labelling legislation, the authors considered the topic of the “country of origin”, in the light of the recent national and EU legislation.

INTRODUCTION

Law No. 283 of 27 July 1934 establishing hygiene requirements for the production and marketing of food and beverages, is considered the first commitment on communication of food characteristics. Such law and further implementing regulation², are intended to regulate the prevention of fraud and the food hygiene sector. In fact, Law No. 283/62 provides mandatory indications for packaged or bulk foodstuffs (article 8) and for penalty on deceptive advertising practices (article 13) which could be misleading for the consumers. The regulatory framework is radically changed since the late ‘70s, with implementation of the European labelling rules, laying down both specific measures on some classes of foodstuffs (vertical rules)³ and general measures on all foodstuffs (horizontal rules)⁴.

The strengthening of new social and economic context, characterized by the increasing role of large-scale commercial chains or anyway by a market with a long retail chain, requires the acceptance of rules aimed to ensure full information to the consumer, thus avoiding an excess of irrelevant information that could turn into misleading and deceptiveness [1] for the consumer.

2 Presidential Decree No. 327 of 26/03/1980 regulating the implementation of Act No. 283 of 30 April 1962, and its subsequent amendments, establishing hygiene requirements for the production and marketing of foodstuffs and beverages.

3 In this regard see, for example but not limited to: Council Directive 2001/112/EC of 20 December 2001 relating to fruit juices and certain similar products intended for human consumption; Council Directive 2001/113/EC of 20 December 2001 relating to fruit jams, jellies and marmalades and sweetened chestnut purée intended for human consumption; Directive 2000/36/EC of the European Parliament and of the Council of 23 June 2000 relating to cocoa and chocolate products intended for human consumption; Council Directive 2001/110/EC of 20 December 2001 relating to honey.

4 Council Directive 79/112/EEC of 18 December 1978 on the approximation of the laws of the Member States relating to the labelling, presentation and advertising of foodstuffs for sale to the ultimate consumer, is the first community rule of a general nature, which has been implemented in Italy by Presidential Decree No. 322 of 15.05.1982. The Directive has been amended by Council Directives 89/395/EEC of 14 June 1989 and 89/396/EEC of 14 June 1989 relating to labelling, presentation and advertising of foodstuffs, implemented in Italy by Legislative Decree No.109/1992 which repealed Presidential Decree No.322 of 15.05.1982. Council Directive 79/112/EEC was repealed by Directive 2000/13/EC of the European Parliament and of the Council of 20 March 2000 on the approximation of the laws of the Member States relating to the labelling, presentation and advertising of foodstuffs, implemented in Italy by Legislative Decree No. 181/2003.

The European labelling rules put in place over the last 30 years are important means which make of labelling a tool for achieving the removal of barriers impeding the free circulation of goods, for ensuring the fair competition amongst companies, jeopardised by regulatory differences among Member States⁵ and for supporting the consumer, who is often obliged to contract with person (seller) other than the producer, to make informed choices through the provision of useful consumer information on the characteristics of the foodstuffs⁶.

Regulation (EC) No. 178/2002, set up the protection of consumers' interests among the general principles of the general food law⁷, confirming in the market communications that labelling, advertising and presentation of foodstuffs must not mislead the consumers⁸.

According to Directive 79/112/EEC which has been later replaced by Directive 2000/13/EC⁹, the indication of country of origin or place of provenance is one of the information that must not deceive the consumer. The country of origin is usually an optional term, which becomes mandatory if the omission could mislead the consumer.

Long since the topic of the country of origin has been examined at European and international level. In countries such as the Italy and France with a long tradition of products linked to the territory, "the mystery of the origin" has been debated remarking that the concept of origin, often referred to the country where the product was manufactured, may in fact have different meanings and not necessarily linked to geographical origin in the food field [2].

The question of the country of origin differs according to whether it applies to the unprocessed products (e.g. fruit and vegetables) or processed products (e.g. cheese), whereas the variety of techniques and production systems often involves a variety of places, through the ingredients and steps by which the final product is obtained [3].

However, in the last years, Europe and national legislators have gradually

5 See recital 1 of Directive 79/112/EEC and recital 2 of Directive 2000/13/EC.

6 See article 2 of Directive 79/112/EEC.

7 See article 8 of Regulation (EC) No. 178/2002 of the European Parliament and of the Council of 28 January 2002 laying down the general principles and requirements of food law, establishing the European Food Safety Authority and laying down procedures in matters of food safety.

8 See article 16 of Regulation (EC) No. 178/2002.

9 According to Directive 2000/13/EC the labelling and methods used must not be such as could mislead the purchaser to a material degree, particularly as to its origin or provenance (article 2, paragraph 1, letter a, point i). Particulars of the place of origin or provenance where failure to give such particulars might mislead the consumer to a material degree as to the true origin or provenance of the foodstuff is mandatory (article 3, paragraph 1, point 8).

expanded the scope of “made in” in order to protecting public health and consumer interest, as it has not been considered a measure with an equivalent effect compared to the restriction on imports according to article 34 of the Treaty on the Functioning of the European Union (TFEU).

EUROPEAN LEGISLATION AND FOOD ORIGIN

A study conducted on request of the European Commission’s Directorate General Health and Consumer Protection in 2005, on labelling, has found that consumers are more careful when buying foodstuffs than other products. As regards food, the results of the study showed that consumers look closely the expiration date, food composition but also country of origin¹⁰.

Since the end of the 1990s the European Union issued different rules making mandatory the country of origin labelling in certain food products.

Beef

One of the first intervention was directed towards beef sector. After the destabilisation caused by bovine spongiform encephalopathy (BSE) crisis, the European Council dictated on the label of beef and beef products, the reference number or the code, pointing out the link between meat and the animal (or group of animals) from which meat derives from, the country where slaughter took place and licence number of the slaughterhouse (“Slaughtered in”) and the country where cutting was performed and the licence number of the cutting plant). (“Cutting/Cut in”)¹¹. From the 1st of January 2002 operators must indicate on the label the country where the animals were born, fattened/bred and slaughtered. This information may be grouped under the heading, “Origin”, followed by the name of the country at issue, whether beef comes from an animal born, bred and slaughtered in the same country. Imported beef for which not all the compulsory information is available, is labelled “Origin: non-EC”, followed by the name of the third country of slaughtering.

Eggs

10 European Commission, Directorate General Health and Consumer Protection, “*The Attitudes of the European Consumers Regarding Product Labelling*”, Qualitative Study in 28 European Countries, conducted by OPTEM, May 2005.

11 Council Regulation (EC) No. 820/97 of 21 April 1997 establishing a system for the identification and registration of bovine animals and regarding the labelling of beef and beef products. It has been repealed and replaced by Regulation (EC) No. 1760/2000 of the European Parliament and of the Council of 17 July 2000 establishing a system for the identification and registration of bovine animals and regarding the labelling of beef and beef products.

Eggs provide the consumer with detailed information. Indeed, the “producer code”¹² stamped on the egg shell, gives information on the type of farming (first number), on the producer state (e.g. IT abbreviation for Italy), on the ISTAT code of city of provenance, on the abbreviation of the province where the farm is located and on the farm code where eggs were laid. Eggs imported from third countries shall be clearly and legibly marked in the country of origin in accordance with the ISO 3166 country code¹³.

Honey

The production and marketing of honey, natural sweet substance produced by *Apis mellifera* bees, is governed by Directive 2001/110/EEC¹⁴. The name of the country of origin (e.g. country of origin: Italy) is among the information which must appear on the label of a jar of honey. If honey originates from more than one Member State or third country that indication may be replaced with “blend of EC honeys” or “blend of non-EC honeys” or “blend of EC and non-EC honeys”¹⁵. However in Italy the Law No. 81/2006¹⁶ requires in a more restrictively way an indication of the country or countries of origin where honey was harvested.

Wine

Labelling rules for wine products has been modified by new CMO (common organisation of the market)¹⁷ and, in particular, by Regulation (EC) No.

12 Council Regulation (EEC) No. 1907/90 of 26 June 1990 on certain marketing standards for eggs, as has been amended by Regulation (EC) No. 5/2001 of 19 December 2000, introduced compulsory marking of table eggs in the Community with a producer code since 1 January 2004. Regulation (EEC) No. 1907/90 has been repealed from 1 July 2007 by Council Regulation (EC) No. 1028/2006 of 19 June 2006 on marketing standards for eggs, amending and simplification previous rules. On 13 November 2007 Italian Minister of Agricultural, Food and Forestry Policies adopted Decree which imposes the arrangements for implementing the common marketing standards for eggs.

13 Article 30 of Commission Regulation (EC) No. 589/2008 of 23 June 2008 laying down detailed rules for implementing Council Regulation (EC) No. 1234/2007 as regards marketing standards for eggs.

14 Council Directive 2001/110/EC of 20 December 2001 relating to honey was transposed into Italian law by Legislative Decree No. 179/2004.

15 Article 2 of Directive 2001/110/EC.

16 Article 2-bis (Honey labelling) of Decree-Law No. 2 of 10 January 2006, converted, with amendments, into Law No. 81 of 11 March 2006, provides that article 3, paragraph 2 of Legislative Decree No. 179/2004, letter f) is replaced by the following: “f) The country or countries of origin where *the honey has been harvested* must be indicated on the label”.

17 Council Regulation (EC) No. 479/2008 of 29 April 2008 on the common organisation of the market in wine, amending Regulations (EC) No. 1493/1999, (EC) No. 1782/2003, (EC) No. 1290/2005, (EC) No. 3/2008 and repealing Regulations (EEC) No. 2392/86 and (EC) No. 1493/1999. Regulation (EC) No. 479/2008 was replaced by Regulation (EC) No. 491/2009.

607/2009¹⁸. Country of origin is among the mandatory indications which shall appear in the same field of view on the container along with the optional ones, in such a way as to be simultaneously readable. Country of origin shall be reported for all wine typologies, with or without designation of origin (e.g.: “wine of (...)”, “produced in (...)”, or “product of (...)”, or expressed in equivalent terms, supplemented by the name of the Member State or third country where grapes are harvested and produced).

Extra virgin and virgin olive oil

The olive oil has been pushed more than other foods for the labelling of origin. Italy adopted Law No. 313 after the protests of Apulian olive growers’ tired of the unfair competition by large companies which packaged oil imported also from third countries¹⁹ as “produced in Italy”.

In practise, the Law has gone unheeded, not only for European Court Justice decision which has declared the decision unlawful for contravention of the ‘standstill’ clause²⁰, but also for adoption of Regulation (EC) No. 2815/98²¹, which introduced the option to declare the designation of origin of extra virgin and virgin olive oil. From the 1st of July 2009 based on Regulation (EC) 182/2009 the designation of origin is mandatory only for extra virgin and virgin olive oil. It shall only consist of²²: “(a) in the case of olive oils originating...*omissis*... from a Member State or third country, a reference of the Member State, of the Community or of the third country, as appropriate; (b) in the case of blends of olive oils originating ...*omissis*... from more than one Member State or third country, one of the following mentions, as appropriate:(i) ‘blend of Community olive oils’ or a reference to the Community; (ii) ‘blend of non-Community olive oils’ or a reference to non-Community origin; (iii) ‘blend of Community and non-Community olive oils’ or a reference to Community and non-Community origin; (c) a protected designa-

18 Commission regulation (EC) No. 607/2009 of 14 July 2009 laying down certain detailed rules for the implementation of Council Regulation (EC) No. 479/2008 as regards protected designations of origin and geographical indications, traditional terms, labelling and presentation of certain wine sector products.

19 Law No. 313 of 3 August 1998 on the labelling of origin of extra virgin olive oil, virgin olive oil and olive oil.

20 Judgment of the Court of Justice of the European Communities of 26 September 2000 in Case C-443/98 (reference for a preliminary ruling from the Pretore di Milano (Italy)): Unilever Italia SpA v. Central Food SpA.

21 Commission Regulation (EC) No. 2815/98 of 22 December 1998 concerning marketing standards for olive oil. See also Ministerial Order of 10 November 2009, which contains rules relating to national marketing standards for olive oil referred to in Regulation (EC) No. 182/2009.

22 See article 1 of Commission Regulation (EC) No. 182/2009 of 6 March 2009 amending Regulation (EC) No. 1019/2002 on marketing standards for olive oil.

tion of origin or a protected geographical indication referred to in Regulation (EC) No. 510/2006, in accordance with the provisions of the product specification concerned.

Regarding import from a third countries, the designation of origin shall be determined in accordance with Articles 22 to 26 of the Community customs code according to Regulation (EEC) No. 2913/92.

The designation of origin shall correspond to the geographical area in which olives were harvested or in which the mill where the oil was extracted is located.

If olives have been harvested in a Member State or third country other than that in which the mill where the oil was extracted is located, the designation of origin shall contain the following wording: ‘(extra) virgin olive oil obtained in (the Community or the name of the Member State concerned) from olives harvested in (the Community or the name of the Member State or country concerned)’.

Fresh fruit and vegetables

European production and trade in the fresh fruit and vegetables sector is mainly governed by Regulation (EC) No. 2200/96²³. Fruit and vegetables which are intended to be sold fresh to the consumer, may only be marketed if they are of sound, fair and marketable quality, packaged or in bulk, and if the country of origin is indicated clearly and legibly with variety and category²⁴, unless the products are sold by the producer on his holding to consumers for their personal use²⁵.

Fishery products

Community rules requires that fish, molluscs and crustaceans which are both products caught at sea or in inland waters, and the products of aquaculture²⁶,

23 Council Regulation (EC) No. 2200/96 of 28 October 1996 on the common organization of the market in fruit and vegetables. That field is also governed by following provisions of Community law: Council Regulation (EC) No. 1182/2007 of 26 September 2007 laying down specific rules as regards the fruit and vegetable sector, amending Directives 2001/112/EC and 2001/113/EC and Regulations (EEC) No. 827/68, (EC) No. 2200/96, (EC) No. 2201/96, (EC) No. 2826/2000, (EC) No. 1782/2003 and (EC) No. 318/2006 and repealing Regulation (EC) No. 2202/96; Council Regulation (EC) No. 1234/2007 of 22 October 2007 establishing a common organisation of agricultural markets and on specific provisions for certain agricultural products (Single CMO Regulation) and Commission Regulation (EC) No. 1580/2007 of 21 December 2007 laying down implementing rules of Council Regulations (EC) No. 2200/96, (EC) No. 2201/96 and (EC) No. 1182/2007 in the fruit and vegetable sector.

24 See article 6 of Regulation (EC) No. 2200/1996 and article 113 Bis of Regulation (EC) No. 1234/2007.

25 See article 3, paragraph 3, letter b, of Regulation (EC) No. 2200/1996.

26 See article 4 of Council Regulation (EC) No. 104/2000 of 17 December 1999 on the common

whether they are live, fresh, chilled, frozen, headless, whether in shell or not, filleted or minced, dried, salted, in brine, smoked, cooked beforehand, in flours, meals and pellets, fit for human consumption, may not be offered for retail sale to the final consumer, irrespective of the marketing method, unless appropriate marking or labelling indicates the commercial designation of the species, the production method (caught at sea or in inland waters or farmed) and the catch area. The indication of the catch area shall consist, in case of products caught at sea, of a reference to one of the FAO areas²⁷, in case of products caught in freshwater, a reference to the Member State or third country of origin of the product and in case of farmed products, a reference to the Member State or third country in which the product undergoes the final development stage.

Where the product is farmed in more than one Member State or third country, the Member State in which it is sold to the final consumer may at the time of such sale authorise the various Member States or third countries in which it is farmed to be indicated. Operators may indicate a more precise catch area²⁸.

Organic farming

From 1 January 2009 new EU regulations became effective for the production, control and labelling of organic products²⁹. For avoiding deceptive practices and any possible confusion amongst consumers on the Community or non-Community origin of the product³⁰, from the 1st of July 2010 the indication of the place where raw materials have been grown, became compulsory for organic food products. Such indication shall appear in the same visual field as the new European logo for organic farming. The place where the agricultural raw materials of which the product is composed by, is characterised by forms “*EU Agriculture*” or “*non-EU Agriculture*” or “*EU/non-EU Agriculture*”. However, the indication “EU” or “non-EU” may be replaced or supplemented by a country in the case where all agricultural raw materials of which the product is composed have been farmed in that country³¹.

organisation of the markets in fishery and aquaculture products. The fishery products sector is governed both Regulation (EC) No. 104/2000 and Commission Regulation (EC) No. 2065/2001 of 22 October 2001 laying down detailed rules for the application of Regulation (EC) No. 104/2000.

27 The Annex to Regulation (EC) No. 2065/2001 refers to FAO and catch areas.

28 See article 5 of Regulation (EC) No. 2065/2001.

29 Council Regulation (EC) No. 834/2007 of 28 June 2007 on organic production and labelling of organic products, repealing Regulation (EEC) No. 2092/91.

30 See recital 27 of Regulation No. 834/2007.

31 See article 24, paragraph 1, (Compulsory indications) of Regulation (EC) No. 834/2007, as amended by Commission Regulation (EC) No. 967/2008: “...omissis... where the Community logo is used, an

Typical products

Products with “*Protected Geographical Indication*” (PGI) and “*Protected Designation of Origin*” (PDO) have a link between product or foodstuff characteristics and geographical origin and respond to a widespread instance of local or regional territorial identity³². Particularly, PGI and PDO are local typical products (the so-called niche products), “result in a geographical name which becomes the name of the agricultural product or foodstuff coming from that place; however, whereas for PDO the qualities or characteristics of the product must be essentially or exclusively due to the particular geographical environment of natural and human factors - that is particular procedures from time to time necessary for obtaining a certain product (such as special growing or fertilization techniques for basic products; particular techniques such as salting and ripening for processed food products depending on the type of product) - and the entire production process, in its various stages, must have been conducted in the geographical area in question; for the PGI only a certain quality or reputation or other characteristics may be attributed to their geographical origin, and even one stage of production cycle (production and / or processing and / or processing) must be in the defined area [4].

ITALIAN RULES ON FOOD ORIGIN LABELLING

indication of the place where the agricultural raw materials of which the product is composed have been farmed, shall also appear in the same visual field as the logo and shall take one of the following forms, as appropriate:

- ‘EU Agriculture’, where the agricultural raw material has been farmed in the EU,
- ‘non-EU Agriculture’, where the agricultural raw material has been farmed in third countries,
- ‘EU/non-EU Agriculture’, where part of the agricultural raw materials has been farmed in the Community and a part of it has been farmed in a third country.

The abovementioned indication ‘EU’ or ‘non-EU’ may be replaced or supplemented by a country in the case where all agricultural raw materials of which the product is composed have been farmed in that country...omissis...”.

32 The designations of origin and geographical indications protected is introduced into the Community with Regulation (EEC) No. 2081/92 of 14 July 1992, replaced by Regulation (EC) No. 510/2006 of 20 March 2006. Within the meaning of Article 2 of Regulation (EC) No. 510/2006:

(a) ‘designation of origin’ means the name of a region, a specific place or, in exceptional cases, a country, used to describe an agricultural product or a foodstuff:

- originating in that region, specific place or country,
- the quality or characteristics of which are essentially or exclusively due to a particular geographical environment with its inherent natural and human factors, and
- the production, processing and preparation of which take place in the defined geographical area;

(b) ‘geographical indication’ means the name of a region, a specific place or, in exceptional cases, a country, used to describe an agricultural product or a foodstuff:

- originating in that region, specific place or country, and
- which possesses a specific quality, reputation or other characteristics attributable to that geographical origin, and
- the production and/or processing and/or preparation of which take place in the defined geographical area.

Also at national level, there have been laws, both general and specific, to extend the mandatory country of origin or provenance over the last 20 years. For reason of protection of the interests of primary production, consumers and public health, the national government decided to introduce vertical legislations on origin labelling.

Poultry, farmed feathered game and wild birds

In 2005, during the avian influenza crisis, in order to prevent the spread of the disease, the Minister of Health adopted an ordinance, extended to 31.12.2012, which dictates operators to report the country of origin (e.g.: Italy) on labelling for poultry, wild and farmed game birds (bred for hunting) meat. The obligation applies to chilled, frozen and deep-frozen meat, poultry meat preparations and fresh poultry meat products.

Fresh milk

In 2005, some months before the avian influenza crisis, the Minister of Economic Development, in consultation with the Ministry of Agricultural, Food and Forestry Policies (MiPAAF), introduced the obligation of the region of origin labelling for fresh milk in order to allow the consumers to attempt an informed choice and not to be misled as to the provenance of the product. The inclusion of the following terms “Milking area” or “Origin milk” would allow to consumer to informed choices, respectively, depending on whether or not the origin can be proven since farms of origin, followed by a reference area of the farm of origin for the milk used³³.

Tomato sauce

In 2006 legislator’s goal for the tomato sauce, was to guarantee with country of origin information the wider protection of the consumer. In particular, in the tomato sauce presentation, the food business operator must indicate the area of cultivation of the fresh tomatoes used. The territory information can be omitted if the effective area of cultivation of tomatoes is coincident with the region or the country where the fresh tomatoes were grown³⁴.

Other agrifood products

Legislative initiatives to introduce a national declaration of origin for the majority of food were done. One of the earliest initiatives was the Law No. 204

³³ Ministerial Decision of 25 May 2004 on the traceability and expiry of fresh milk.

³⁴ Ministerial Decision of 17 February 2006 on tomato sauce. Fresh tomato origin.

of 3 August 2004³⁵ strongly opposed by the processing industry for the introduction of a standard which does not distinguish between processed and unprocessed products. The European Commission too has criticised the national legislation considering that it infringes the principles of the free movement of goods in the internal market under article 28 of TEC [5]. The law 204/2004 has gone unheeded since had never been adopted by MiPAAF decrees.

In the same years, other regulatory interventions have tried to expand the area of criminal law protection of “Made in Italy” to other foods, punishing false or misleading indications of origin and introducing new offenses in relation to geographical indications and designation of origin of food products³⁶.

The latest Italian initiative is Law No. 4 of 3 February 2011, on the Provisions relating to labelling and food quality, which include the place of origin or provenance on the label foods³⁷. However, different operating arrangements are established in the same act for processed and unprocessed products. In particular, for unprocessed products the act says that the indication of country or place of provenance concerns the country of production, while for processed products the country of origin or provenance regards the country where the last substantial processing took place and the place of cultivation or growing of agricultural raw material mainly intended for the preparation or production of foodstuffs³⁸.

The Italian legislature has delegated to the Minister of Agricultural, Food and Forestry Policies and the Minister of Economic Development, in consultation with the Joint Conference of Article 8 of Legislative Decree No. 281 of 28 August 1997, the mandatory country of origin labelling, and the traceability of products of agricultural origin or provenance of the national territory. The law did not find, in fact, practical application because the measures necessary for the correct implementation have not been adopted.

35 Law No. 204 of 3 August 2004, conversion into a law, with modifications, of Decree Law No. 157 of 24 June 2004, on urgent measures on the labelling of certain agrifood products, and on agriculture and fisheries.

36 Italian budget for 2004 (Law No. 350 of 24 December 2003), Decree Law on Competitiveness (Decree Law No. 35 of 14 March 2005), Decree Law No. 203 of 30 September 2005, converted into Law No. 248 of 2 December 2005) Italian Budget for 2007 (Law No. 296 of 27 December 2006), Law No. 99 of 23 July 2009 and Decree Law No. 135 of 25 September 2009.

37 See article 1, paragraph 1 of Law No. 4/2011.

38 See article 4, paragraph 2 of Law No. 4/2011.

COOL IN THE REGULATION (EU) No. 1169/2011

After a long and challenging development³⁹, 25 October 2011 Regulation (EU) No. 1169/2011 on the provision of food information to consumers⁴⁰ have adopted by the European Parliament and the Council of the European Union. Among the innovations introduced, the extension of country of origin labelling to fresh and frozen meat of swine, sheep, goats and poultry⁴¹ and by 13 December 2013 the European Commission shall adopt its implementing acts.

For other foods “Made in ...” is voluntary, unless its absence could mislead consumers in particular “if the information accompanying the food or the label as a whole, would otherwise imply that the food has a different country of origin or place of provenance”⁴².

But this time around, the European legislature has specified that country of origin of a food shall refer to the origin of a food as determined in accordance with Articles 23 to 26 of Regulation (EEC) No. 2913/92⁴³, thus removing an aura of mystery that has always been the topic of the country of origin.

Therefore, in order to determine the country of origin of a food we should report for the vegetable products, to where they were harvested, for the products obtained from animals, to where they were raised, for products obtained by hunting or fishing, to where they were practiced.

Goods whose production involved more than one country shall be deemed to originate in the country where they underwent their last, substantial, economically justified processing or working in an enterprise equipped for that purpose and resulting in the manufacture of a new product or representing an important stage of manufacture⁴⁴.

Other news⁴⁵, under the Regulation refers to the country of origin or place of provenance of the primary ingredient⁴⁵. In particular, where the country of

39 On 30 January 2008 the European Commission published its “Proposal for a Regulation on the Provision of Food Information to Consumers”.

40 Regulation (EU) No. 1169/2011 of the European Parliament and of the Council of 25 October 2011 on the provision of food information to consumers, amending Regulations (EC) No. 1924/2006 and (EC) No. 1925/2006 of the European Parliament and of the Council, and repealing Commission Directive 87/250/EEC, Council Directive 90/496/EEC, Commission Directive 1999/10/EC, Directive 2000/13/EC of the European Parliament and of the Council, Commission Directives 2002/67/EC and 2008/5/EC and Commission Regulation (EC) No. 608/2004. By 14 December 2014 the article 54 repeals Directive 2000/13/EC .

41 See article 26, paragraph 2, letter b, of Regulation (EU) No. 1169/2011.

42 See article 26, paragraph 2, letter a, of Regulation (EU) No. 1169/2011.

43 See article 3, paragraph 3 of Regulation (EU) No. 1169/2011.

44 See articles 23 and 24 of Community Customs Code.

45 In accordance with article 2, paragraph 2, letter q) of Regulation (EU) No. 1169/2011, “primary ingredient” means an ingredient or ingredients of a food that represent more than 50 % of that food or which are usually associated with the name of the food by the consumer and for which in most cases a quantitative indication is required.

origin or the place of provenance of a given food is not the same of its primary ingredient, the country of origin or place of provenance of the primary ingredient in question shall also be given or the country of origin or place of provenance of the primary ingredient shall be indicated as being different to that of the food⁴⁶.

Therefore, by 13 December 2013, the European Commission shall adopt its implementing acts on the primary ingredient.

It is evident that the Regulation (EU) No. 1169/2011 addresses the issue origin labelling not as a static situation, but rather as a work in progress.

In fact, by 13 December 2014, the Commission shall submit reports to the European Parliament and the Council regarding the mandatory indication of the country of origin or place of provenance for other foods like types of meat other than those compulsorily imposed by legislation, milk, milk used as an ingredient in dairy products, unprocessed foods⁴⁷, single ingredient products and ingredients that represent more than 50 % of a food⁴⁸.

In addition, Member States may introduce measures concerning the mandatory indication of the country of origin or place of provenance of foods only where “there is a proven link between certain qualities of the food and its origin or provenance”⁴⁹, provided that they do not prohibit, impede or restrict the free movement of goods, including discrimination as regards foods from other Member States⁵⁰ and requiring at least the protection of public health, the protection of consumers, the prevention of fraud or the protection of industrial and commercial property rights, indications of provenance, registered designations of origin and the prevention of unfair competition⁵¹.

CONCLUSIONS

The Regulation (EU) No. 1169/2011 gives a strong acceleration to the mandatory country of origin labelling in the European agro-food system, assigning to the European Commission and the Member States a dynamic role.

46 See article 26, paragraph 3, letter a), b) of Regulation (EU) No. 1169/2011.

47 In accordance with article 2, paragraph 1, letter n) of Regulation (EC) No. 852/2004, “unprocessed products” means foodstuffs that have not undergone processing, and includes products that have been divided, parted, severed, sliced, boned, minced, skinned, ground, cut, cleaned, trimmed, husked, milled, chilled, frozen, deep-frozen or thawed.

48 See article 26 paragraph 5 of Regulation (EU) No. 1169/2011.

49 See article 39, paragraph 2 of Regulation (EU) No. 1169/2011.

50 See article 38, paragraph 1 of Regulation (EU) No. 1169/2011.

51 See article 39, paragraph 1 of Regulation (EU) No. 1169/2011.

The European Commission is called to adopt – following impact assessments – implementing acts concerning origin labelling of pork, sheep, goats and poultry meat and of the primary ingredient, and to prepare reports on the possibility to extend mandatory origin labelling to other foodstuffs such as meat (other than those mentioned above), milk (also used as an ingredient in dairy products), meat used as an ingredient, unprocessed food, single ingredient products and ingredients that represent more than 50 % of a food.

Based on the conclusions of such reports, which must take into account the need for the consumer to be informed, the feasibility of providing the mandatory indication of the country of origin or place of provenance and an analysis of the costs and benefits of the introduction of such measures, including the legal impact on the internal market and the impact on international trade⁵², the Commission may submit proposals to modify the relevant Union provisions or may take new initiatives, where appropriate, on a sectoral basis⁵³.

Member States have the opportunity to expand the list of foods with mandatory country of origin labelling, provided there is a proven link between certain qualities of the food and its origin or provenance and those national measures shall not give rise to obstacles to free movement of goods, including discrimination as regards foods from other Member States⁵⁴.

In that event Member State must comply with the provision referred to in article 45 of Regulation (EU) No. 1169/2011⁵⁵, notifying in advance to the Commission and to the other Member States on their assessments, measures which deems it necessary to adopt and give the reasons justifying them.

However, the recognition of the possibility for Member States to legislate in the area of origin labelling could introduce confusion on the EU market and discrimination between operators and consumers, thus defeating the Commission's attempts to achieve harmonisation in over thirty years of horizontal legislation on food labelling [6].

However, after years of doctrine and jurisprudence disputes the introduction of the definition of origin for agri-foods products by regulation (EU) No. 1169/2011, through the explicit reference to the origin definition laid down by articles 23 to 26 of the Community Customs Code is appreciable.

52 See article 26, paragraph 7 of Regulation (EU) No. 1169/2011.

53 See recital 32 of Regulation (EU) No. 1169/2011.

54 See article 38 of Regulation (EU) No. 1169/2011.

55 Directive 98/34/EC of the European Parliament and of the Council of 22 June 1998 laying down a procedure for the provision of information in the field of technical standards and regulations, shall not apply to the measures falling within the notification procedure specified in Article 45 of Regulation (EU) No. 1169/2011.

REFERENCES

1. Albissini F. (2011): Etichettatura dei prodotti alimentari, in *Diritto Alimentare. Mercato e Sicurezza*, directed by F. Albissini, Wolters Kluwer Italia, Milano, www.leggiditaliaprofessionale.it
2. Albissini F. e Venzi L. (2000): The origin, typicality and quality of agri-food products: the territory as input for the enterprise, Sylvander B., Barjolle D., Arfini F. (Eds). *The socio-économics of origin labelled products in agri-food supply chains: Spatial, Institutional and co-ordination aspects* (Proceedings of the 53rd Seminar of the European Association of Agricultural Economics, Le Mans, 1999) Le Mans, 215 - 223
3. Albissini F. (2000): L'origine dei prodotti agroalimentari e la qualità territoriale. *Rivista di diritto agrario*, 1, 23-44.
4. Giuffrida M. (2011): Sistemi di qualità DOP, IGP e STG in *Diritto Alimentare. Mercato e Sicurezza*, directed by F. Albissini, Wolters Kluwer Italia, Milano, www.leggiditaliaprofessionale.it
5. Rapisarda P., Rizzo M., Mazzamuto F. (2009): Un portale per la valorizzazione dei prodotti ortofrutticoli di qualità della provincia di Catania. *Cambiamenti nel sistema alimentare: nuovi problemi, strategie, politiche, XLVI Convegno Sidea*. 16th - 19th Sept. 2009, Piacenza
6. Rubino V. (2011): Il nuovo regolamento relative alla fornitura di informazioni sugli alimenti ai consumatori fra novità e conferme. *Euro-carni*, 10, 19-25

Patologie del sistema endocrino nei mammiferi domestici

Cantoni Anna Maria, Marchetti Cristina, Corradi Attilio¹.

Generalità

Il **Sistema Endocrino** è un complesso e delicato insieme di cellule altamente specializzate deputato al mantenimento dell'omeostasi. Le cellule a funzione endocrina si presentano raggruppate in **ghiandole** (ipofisi, epifisi, tiroide, paratiroidi, surreni, pancreas), in **nuclei** (nuclei parvicellulari neurosecretori ipotalamici), o **sparse** (**Sistema Endocrino Diffuso - SNED**) o facenti **parte di altri sistemi: SNC e Sistema Immuno Competente**. Il Sistema Endocrino è un circuito ormono-recettoriale di relazione che regola, in continuo, le funzioni fisiologiche dell'organismo mediante la secrezione di messaggeri chimici e che si autoregola mediante *feed-back* di segnale, per un costante adeguamento dell'organismo alle sollecitazioni provenienti dal suo interno o dall'esterno.

Gli ormoni regolano i metabolismi (sintesi, deposito e utilizzo di glucidi, lipidi e proteine), **l'omeostasi** (pressione arteriosa, temperatura corporea, idrodinamica-elettroliti, turn-over del calcio, ecc.), **l'accrescimento somatico e viscerale** (corpo, organi, tessuti) e gli organi coinvolti nella **riproduzione** (maturazione del follicolo ovarico; spermatogenesi).

I suoi messaggeri sono gli ormoni, secreti nella maggioranza dei casi nei capillari endoteliali ematici, che permeano fittamente la ghiandola o il tessuto. L'estensione periferica del citoplasma delle cellule endoteliali presenta numerose fenestrazioni che facilitano il trasporto dei secreti ormonali dalle cellule endocrine al sangue del letto capillare.

Nella diagnostica delle disendocrinopatie (turbe della funzionalità endocrina) è necessario dosare la quantità plasmatica dell'ormone oggetto di valutazione. La quantità plasmatica degli ormoni è altamente variabile ed è dosabile in peso (da µg/L a ng/L) o in moli (da nmol/L a femto mol/ml).

¹ Unità Operativa di Patologia Generale e Anatomia Patologica Veterinaria- Dipartimento di Scienze Medico Veterinarie -Università degli Studi di Parma.

1) Classificazione biochimica degli ormoni

La natura chimica degli **ormoni** è variabile (**peptidi/polipeptidi/proteine, steroidi, derivati dell'aminoacido tirosina**) ed è variabile anche il numero di cellule su cui esplicano la loro azione biologica: da un unico *target* cellulare a tutte le cellule dell'organismo.

Dal punto di vista biochimico gli **ormoni** possono essere classificati in **semplici e complessi**.

Ormoni semplici Sono composti di un singolo aminoacido (tirosina) modificato (catecolamine, dopamina, iodotironine), da lipidi (steroidi gonadici e cortico-surrenali) o da peptidi/polipeptidi (glucagone, insulina, GH, ACTH, ecc.)

Ormoni complessi Sono composti glico-proteici (TSH, LH, FSH, ecc.).

Gli ormoni polipeptici rappresentano l'80% del totale, mentre gli ormoni steroidei il 15% e gli ormoni tirosina-derivati il 5%.

2) Le cellule attive nella produzione di ormoni

Le cellule deputate alla sintesi e secrezione di ormoni sono identificabili in **elementi epiteliali** (ghiandole a secrezione endocrina), in **neuroni secernenti** neuropeptidi (neuroni ipotalamici), in **cellule APUD** (*amine precursor uptake and decarboxylation*) che rappresentano il Sistema Endocrino Diffuso e in **cellule del Sistema Immuno Competente** (es. timociti).

3) Morfofunzione delle cellule endocrine

Le cellule che sintetizzano **ormoni peptidici/polipeptidici** presentano nel citoplasma un reticolo endoplasmico rugoso ben sviluppato, sede della sintesi ormonale e un apparato del Golgi altrettanto sviluppato, sede di accumulo dell'ormone preformato. Le cellule della midollare surrenalica presentano anch'esse un citoplasma granuleggiante, espressione di vescicole contenenti **catecolamine** immagazzinate. Nelle cellule della zona midollare della ghiandola surrenale, la tirosina è convertita in levodopa dall'enzima tirosina idrossilasi (TH) e per successive azioni enzimatiche è trasformata dapprima in norepinefrina (noradrenalina) e poi in epinefrina (adrenalina). L'enzima TH è implicato anche nella sintesi della dopamina. Gli ormoni tiroidei triiodotiroina (T_3) e tiroxina (T_4) nella tiroide derivano dalla tirosina grazie all'azione dell'enzima tireoglobulina.

Gli ormoni polipeptidi e le catecolamine prodotti in eccesso sono degradati per crinofagia (fusione dei granuli contenenti l'ormone con i lisosomi).

Le cellule che producono **ormoni steroidei** contengono globuli lipidici, precursori dell'ormone (colesterolo), che, all'osservazione al microscopio convenzionale, si evidenziano come vacuoli otticamente vuoti. La produzione degli ormoni steroidei è di tipo continuo e pertanto la cellula non li accumula in grandi quantità. La necessità dell'organismo di avere un'attività ormonosecretoria sempre attiva caratterizza morfologicamente dette cellule che presentano un reticolo endoplasmatico di tipo liscio. Le cellule che producono ormoni steroidei presentano numerosi mitocondri contenenti enzimi (idrossilasi e deidrogenasi) necessari per la biosintesi ormonale.

4) Modalità di trasmissione del segnale

La trasmissione del messaggio avviene essenzialmente mediante tre diverse modalità di segnale:

a. Endocrino, l'ormone è riversato nel circolo ematico (ghiandole endocrine);

b. Paracrino, l'ormone viene ad agire su gruppi di cellule adiacenti alla cellula secernente (SNED);

c. Autocrino, l'ormone agisce direttamente sulla cellula produttrice;

Limitatamente al SNC la trasmissione del segnale avviene anche nello spazio intersinaptico, dove una vescicola pre-sinaptica rilascia il neurotrasmettitore che lega il recettore specifico di membrana di una struttura post-sinaptica: neurone, dendrite, assone.

5) Il sistema ormone-recettore

Gli ormoni agiscono sulle cellule mediante legame recettoriale. Il recettore può essere specifico per un singolo ormone o essere aspecifico e legarsi a più ormoni.

I recettori attivabili da ormoni peptidici o dalle catecolamine, meno dagli ormoni derivati della tirosina, sono localizzati, di solito, sulla membrana cellulare e la loro funzione biologica è, soprattutto, di natura regolatrice della membrana medesima. La persistenza, nel torrente circolatorio, degli ormoni polipeptidici è di pochi minuti per consentire loro tempestività e limitarne, al contempo, la durata d'azione. Queste loro caratteristiche biologiche d'immediatezza e di breve durata d'azione fanno sì che queste molecole ad attività ormonale siano idrosolubili, non siano veicolate nell'organismo da proteine

plasmatiche “*carrier*” e si leghino a recettori posti sulla prima struttura anatomica della cellula *target* (membrana cellulare).

Gli ormoni steroidei e iodinati (triiodotironina o T3 e tetraiodotironina o T4) agiscono in ambito citoplasmatico e soprattutto a livello di nucleo, dove ne regolano funzioni biosintetiche (T3 e T4). Altri recettori per T3 e T4 sono siti sulla membrana plasmatica e su quella dei mitocondri e l'attività ormonale espressa è di tipo regolatrice per le membrane medesime.

La persistenza nel sangue degli ormoni steroidei è di alcune ore. Gli ormoni steroidei sono lipofili e pertanto necessitano di una proteina plasmatica “*carrier*” per essere veicolati nell'organismo, proteina necessaria anche per superare la membrana plasmatica cellulare e consentire alla molecola di legarsi ai recettori nucleari specifici. Questi recettori risultano stereospecifici per le varie classi di ormoni steroidei. Ogni cellula bersaglio ne può possedere circa 20.000-40.000.

Gli ormoni polipeptici hanno un'unica via per raggiungere l'ambiente intracellulare; attivano l'enzima adenilciclasi, sito sulla membrana cellulare, da cui consegue la formazione intracellulare di adenosin monofosfatocicali (AMPc) partendo dall'ATP. L'AMPc attiva poi, nel citoplasma, le proteinchinasi AMPc dipendente.

Gli ormoni steroidei interagiscono con il patrimonio genetico contenuto nel nucleo della cellula in cui modulano segnali (RNAm) per nuove biosintesi proteiche (enzimi, proteine strutturali, ecc.) destinate alle cellule *target*.

La frazione libera degli ormoni steroidei è quella bioattiva, mentre quella legata alle proteine “*carrier*” rappresenta una quota di riserva circolante. L'aliquota di ormone legata alla proteina “*carrier*” è protetta dalla degradazione e rappresenta una riserva, biologicamente attiva e circolante dell'ormone che può rendersi disponibile in caso di cambiamenti improvvisi della loro concentrazione nel plasma.

Le catecolamine utilizzano una via biologica d'interazione con le cellule simile a quella degli ormoni polipeptici, mentre gli ormoni tiroidei T3 e T4 utilizzano il meccanismo biologico d'interazione con la cellula tipica degli steroidi.

6) Interferenti endocrini (Endocrine disruptors)

Per l'Unione Europea “un Interferente Endocrino è una sostanza esogena, o una miscela, che altera la funzionalità del sistema endocrino, causando effetti avversi sulla salute di un organismo, oppure della sua progenie o di una (sotto) popolazione”.

Quando la secrezione di ormone è interrotta, si verifica uno squilibrio omeostatico che può portare a problemi come l'obesità, il Diabete mellito e decalcificazione delle ossa. Le sostanze naturali o artificiali che possono causare questo squilibrio sono descritte come interferenti o perturbatori endocrini. Gli interferenti sono divisi in tre categorie:

Mimi - Questi agenti distruttori sono percepiti dal corpo animale come veri e propri ormoni, perché suscitano le reazioni biochimiche degli stessi ormoni naturali.

Bloccanti - Questi interferenti, bloccando i recettori delle cellule ed impediscono l'azione degli ormoni naturali sulle stesse

Innescanti - Questi distruttori endocrini suscitano reazioni insolite o anormali nelle cellule

Lo sviluppo embrionale (organogenesi e fetogenesi) è un processo molto articolato, regolato da messaggeri chimici specifici, programmati per essere rilasciati in un preciso momento della vita fetale, sospesi e ripresi in altre fasi della gestazione. Se una sostanza chimica interferisce con questi messaggeri, può causare un danno irreversibile a un certo stadio evolutivo del feto, con evidenti effetti sul suo sviluppo e funzione che si concretizza con alterazioni ontogenetiche (anomalie e deformità).

Gli effetti degli interferenti endocrini non sono limitati agli ormoni sessuali maschili o femminili, ma interessano anche altre ghiandole endocrine che svolgono un ruolo nella crescita, nello sviluppo e nella riproduzione dell'animale.

L'enorme quantità di composti che potrebbero interferire con il sistema endocrino umano e animale non ne facilita la classificazione.

In via generale è possibile raggruppare questi composti in quattro categorie principali

1. Farmaci o estrogeni sintetici (come ad esempio il 17- β estradiolo o l'estrogeno sintetico dietilstilbestrolo, DES).
2. Pesticidi, a loro volta distinguibili in:
 - 2.1. organofosforici;
 - 2.2. carbammati;
 - 2.3. piretroidi sintetici;
 - 2.4. organoclorurati;

3. Plastificanti e prodotti derivanti dalla combustione del PVC (ma anche della carta e delle sostanze putrescibili) come le diossine
4. Sostanze di origine industriale come:
 - 4.1. fenoli;
 - 4.2. ritardanti di fiamma;
 - 4.3. acido perfluorooctanico e suoi sali;
 - 4.4. diossine;
 - 4.5. alcuni metalli pesanti (piombo, cadmio e mercurio).

Sono stati dimostrati effetti estrogeno-simili (sia *in vivo* sia *in vitro*) anche per alcune sostanze naturali (incluse alcune micotossine come lo zearalenone), potenzialmente presenti in diverse componenti della dieta.

Per il lindano e il pentaclorofenolo (organo clorurati) è stato dimostrato l'influenza negativa sulla funzione riproduttiva nelle pecore interferendo pure con la funzionalità della tiroide.

Le diossine e i composti aromatici policlorurati provocano anomalie nello sviluppo del sistema immunitario e del cervello e riduzione delle concentrazioni degli ormoni tiroidei nel ratto neonato.

Tabella n. 1: proprietà caratteristiche dei principali tipi di ormoni dei mammiferi

	CORTICALE SURRENALE	MIDOLLARE SURRENALE	TIROIDE	ALTRI OR- GANI
PROPRIETÀ	STEROIDI	CATECOLA- MINE	TIROXINE	PEPTIDI E PROTEINE
regolazione della sintesi con meccanismo di feedback	presente	presente	presente	presente
immagazzinamento di ormoni preformato	molto limitato	alcuni giorni nella midollare del surrene	alcune settimane	un giorno
meccanismo di secrezione	diffusione attraverso la membrana citoplasmatica	esocitosi dalle vescicole di stoccaggio	proteolisi della tireoglobulina	esocitosi dalle vescicole di stoccaggio
legame con le proteine plasmatiche	si	no	si	raro

tempo di presenza nel sangue circolante	ore	secondi	giorni	minuti
durata d'azione	da ore a giorni	secondi o meno	giorni	da minuti a ore
recettori	citosolico o nucleare	membrana plasmatica	nucleare	membrana plasmatica
meccanismo d'azione	complesso recettore-ormone controlla la trascrizione e la stabilità degli m-RNA	il legame con l'ormone causa il cambiamento del potenziale di membrana o attiva la sintesi dei secondi messaggeri citosolici	complesso recettore-ormone controlla la trascrizione e la stabilità degli m-RNA	il legame dell'ormone attiva la sintesi dei secondi messaggeri citosolici o l'attività della proteina chinasi

7) Sistema Endocrino Diffuso - SNED

Il **SNED** è costituito da cellule dei sistemi nervoso centrale (SNC) e Periferico (SNP) e anche da cellule epiteliali di organi e apparati extra-nervosi. Le cellule **SNED** possono produrre ammine biologiche o peptidi attivi che agiscono come neurotrasmettitori, ormoni o regolatori paracrini.

Il **SNED** ha diversa origine ontogenetica. Dal neuroectoderma originano i neuroni autonomici, le cellule parafollicolari della tiroide e le cellule cromaffini della midollare del surrene, mentre dall'endoderma originano le cellule endocrine del pancreas e quelle del tubo digerente. Della stessa assonanza ontogenetica ectodermica sono anche le ghiandole ipofisi e paratiroidi.

Il **SNED** può essere classificato come:

- 1. Tipo nervoso** che include il SNC, il SNP, la midollare surrenalica e i parangli.
- 2. Tipo epiteliale localizzato** nelle ghiandole endocrine, o in parte di esse o **incorporato** in altri apparati o organi.

2.1 Tipo localizzato:

adenoipofisi, isole pancreatiche (Langerhans), paratiroidi.

2.2 Tipo unicellulare incorporato:

apparato gastro-enterico-pancreatico (GEP), fegato, cellule di Merkel della cute, cellule parafollicolari della tiroide, ghiandola mammaria, sistema urogenitale maschile e femminile, apparato respiratorio.

Le cellule neuroendocrine per essere tali devono possedere un tritico comune di caratteristiche morfofunzionali: a) essere in grado di produrre neurotrasmettitori, neuromodulatori o ormoni neuropeptidici; b) presentare granuli secretori contenenti ormoni escreti in risposta a stimoli esogeni; c) essere prive di strutture neuroanatomiche come assoni o sinapsi.

Le cellule neuroendocrine presentano un nucleo tondeggiante, argirofilia citoplasmatica e granuli intracitoplasmatici di secrezione contenenti peptidi.

I peptidi prodotti dalle cellule neuroendocrine sono numerosi (oltre 50) e sono in continuo divenire.

Lo stesso ormone può essere presente in cellule neuroendocrine differenti ed è inoltre possibile che la stessa cellula neuroendocrina sintetizzi ormoni diversi.

Tabella n.2: cellule SNED e ormoni correlati

CELLULE SNED	ORMONE SECRETO
Tratto gastro-entero-pancreatico (GEP)	Colecistochinina, Insulina, Glucagone, Somatostatina, VIP, PP, Gastrina, Secretina, Serotonina
SNC e SNP	Serotonina, β -Endorfina, Encefalina, ecc
Apparato urogenitale (rene)	Eritropoietina, Sistema Callicreina-Chinina, Sistema Renina-Angiotensina
Apparato tegumentario	cellule di Merkel possono avere una probabile influenza sulla secrezione di neuropeptidi comportandosi come regolatori di tipo paracrino sull'epidermide e sui suoi annessi
Miocardio	Atrial Natriuretic peptide (ANP)
Timo	Timosina, Timopoiatina, Fattore Timico Umorale, Timulina
Apparato respiratorio (polmone)	Bombesina, Calcitonina, α hCG, ACTH
Ghiandola mammaria	GH

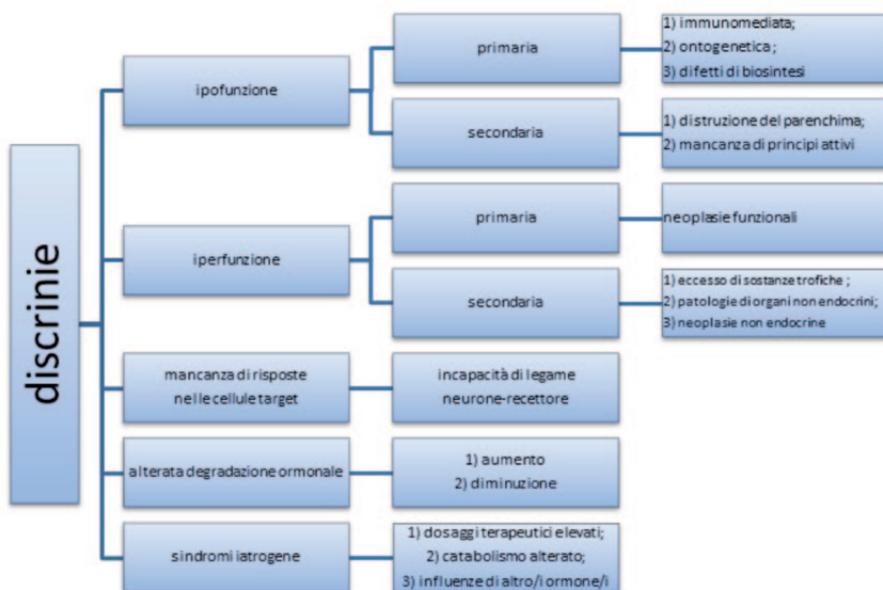
Fegato	Insulin-like growth factor (IGF-1)
Tessuto adiposo	Leptina

8) Patobiologia delle malattie del Sistema Endocrino

Le malattie che coinvolgono il Sistema Endocrino sono legate alle **produzione** dei loro **ormoni**, **in difetto** (*ipofunzione*), o **in eccesso** (*iperfunzione*), oppure per insensibilità delle cellule *target* a reagire all'azione dell'ormone specifico. Altra condizione disendocrinopatica è descritta nella gravidanza, soprattutto nei ruminanti, che si manifesta con **prolungamento** della durata del **periodo di gestazione** e comparsa di malformazioni fetali.

Altre possibili cause di disfunzione del Sistema Endocrino sono imputabili a una **distruzione rallentata o accelerata dell'ormone**. Si conosce inoltre una sindrome da **eccesso ormonale per cause iatrogene**.

Gli **stati ipofunzionali e iperfunzionali** interessano le attività delle ghiandole endocrine e possono presentarsi in forma **primaria o secondaria** oppure, unicamente per gli stati iperfunzionali, si possono osservare in patologie, neoplastiche o non neoplastiche, ormono-secernenti, di organi extra-endocrini.



a) IPOFUNZIONE

Ipofunzionalità primaria

In questo stato patologico si osserva una diminuzione delle quantità plasmatiche di ormone e tre sono essenzialmente le cause responsabili.

- 1) La prima, **immuno-mediata**, causa la necrosi degli elementi epiteliali neuroendocrini; si ricava a livello di tiroide (tiroidite linfocitaria), paratiroidi e corteccia della ghiandola surrenale.
- 2) La seconda è di natura **ontogenetica**. Un esempio si osserva nel nanismo ipofisario del cane in cui, per mancato differenziamento dell'ectoderma orofaringeo in cellule secernenti l'ormone somatotropo (GH), si registra un deficit plasmatico di GH. Nel cani di razza Pastore tedesco colpiti da nanismo ipofisario, per difetto di organogenesi, si associa, spesso, ma talvolta non determinante, la presenza di una cisti della tasca di Rathke che può eventualmente comprimere la neuroipofisi, con conseguente alterazione del metabolismo idrico-salino per diminuita biosintesi dell'ormone neuroipofisario vasopressina.
- 3) La terza causa di ipofunzionalità endocrina è da ascrivere a **difetti** nella **biosintesi** di un ormone o all'assenza di un enzima specifico nella sua via biosintetica. Nel suino affetto da rachitismo si registra l'assenza, a livel-

lo del tubulo renale prossimale, dell'enzima 25-idrossicolecalciferolo-1- α -idrossilasi, enzima specifico per l'attivazione della Vit. D3, necessaria, assieme agli ormoni secreti dalla tiroide (calcitonina) e dalla paratiroide (paratormone o PTH), nella regolazione omeostatica del calcio.

i) Ipofunzionalità secondaria

Questa condizione patologica avviene quando si assiste a una massiccia **distruzione di parenchima ghiandolare** (es. neoplasia ipofisaria) oppure per **mancanza di iodio** per le cellule follicolari della tiroide, ione necessario per la biosintesi degli ormoni tiroidei T3 e T4.

Nel caso della neoplasia dell'ipofisi si osserva ipofunzione secretiva di più ormoni ipofisari con conseguente ipofunzione polighiandolare (corteccia surrenalica, tiroide, gonadi).

b) IPERFUNZIONE

i) Iperfunzionalità primaria

La condizione migliore conosciuta è legata alla presenza di **cellule neoplastiche ormono-secernenti** che sintetizzano e secernono l'ormone, in modo autonomo, senza il controllo di *feed-back* negativo. La secrezione è nettamente superiore alle necessità omeostatiche e l'organismo non è in grado di degradare completamente l'ormone secreto in eccesso.

L'iperfunzionalità primaria colpisce tutte le ghiandole del Sistema Endocrino.

ii) Iperfunzionalità secondaria

1) L'iperfunzionalità secondaria è legata alla **produzione in eccesso di sostanze trofiche** da parte di cellule ghiandolari lesionate, con conseguente aumento di secrezione di ormone nella ghiandola *target*. Un esempio tipico è la secrezione abnorme di ACTH da parte di cellule neoplastiche nell'adenoipofisi che evoca un aumento della cortisolemia per eccesso di stimolazione secretoria delle cellule della zona fascicolata della corteccia surrenalica.

2) Iperfunzionalità secondaria a patologie di organi non endocrini

Questa condizione patologica è ben conosciuta a livello di **paratiroidi per turbe del metabolismo del calcio** a seguito di danni renali o per malnutrizione (bassi livelli di calcio e alti livelli di fosforo o di ossalati nella dieta).

3) Ipersecrezioni di ormoni da neoplasie non endocrine

Questa condizione è da ascrivere a **cellule neoplastiche secernenti peptidi con attività ormone-correlata**. Nel cane è conosciuta la neoplasia delle cellule apocrine paranasali in grado di secernere un peptide paratormone correlato (PTH-rP), che altera profondamente l'omeostasi del calcio con calcificazioni metastatiche per fenomeni di mobilitazione del calcio dalle ossa, per accentuata attività osteoclastica PTH-rP indotta.

c) DISFUNZIONE ENDOCRINA PER MANCANZA DI RISPOSTA NELLE CELLULE *TARGET*

La patologia è legata all'**incapacità dell'ormone a legarsi al proprio recettore** e attivare l'ingresso, nella cellula, del messaggero adenosin monofosfato ciclico (AMPC). È una condizione che interessa soprattutto i recettori di membrana (catecolamine e polipeptidi) piuttosto che recettori intracitoplasmatici o nucleari (ormoni steroidei o T3 e T4).

Il Diabete mellito insulino-resistente, associato all'obesità, è l'esempio tipico di mancato legame tra ormone e recettore per diminuzione o "down-regulation ormonale" dei recettori nelle cellule *target*.

d) DISFUNZIONE ENDOCRINA PER ALTERATA DEGRADAZIONE ORMONALE

La disfunzione può tradursi in un **aumento o** in una **diminuzione della degradazione ormonale**.

Nella condizione di aumento si annovera uno *status* ormonale ben conosciuto in modelli animali sperimentali (ratti).

L'esposizione prolungata a xenobiotici (es. barbiturici) favorisce l'azione di enzimi epatici con conseguente aumento di degradazione della tiroxina (T4), in un contesto ghiandolare e recettoriale di assoluta normofunzionalità.

Nella condizione di diminuzione della degradazione ormonale è conosciuto il fenomeno della femminilizzazione da iperestrogenismo in maschi, con insufficienza epatica cronica (es. cirrosi epatica).

e) SINDROMI IATROGENE DA ECCESSO ORMONALE

i) La somministrazione di **dosaggi elevati di molecole ormonali di sintesi** può evocare fenomenologie patologiche identiche a condizioni di iperfunzionalità di una ghiandola a secrezione endocrina. Nel cane sono note le atrofie cortico-surrenaliche da somministrazione prolungata di glicocor-

ticoidi. La somministrazione di dosaggi elevati di ormoni di sintesi può indurre gravi deficit metabolici che possono mettere a rischio la stessa vita dell'animale (es. somministrazione di insulina sintetica con conseguente grave ipoglicemia).

- ii) La **limitata capacità di catabolismo dell'ormone** è un'altra condizione da eccesso ormonale su base terapeutica (nel gatto la capacità di glucuronazione epatica degli ormoni tiroidei T3 e T4 è limitata).
- iii) La situazione talvolta è più complessa in quanto la **somministrazione di alcuni ormoni produce un eccesso ormonale di un altro/i ormone/i**. Nella cagna la somministrazione di progestinici di sintesi (es. medrossiprogesterone), per il controllo dell'estro, induce un aumento del livello plasmatico di ormone della crescita (GH), annullandone anche il ritmo pulsatile di secrezione circadiano da parte dell'adenoipofisi. Contestualmente all'aumento di GH plasmatico si registra anche l'aumento plasmatico dell'Insulin Growth Factor - 1 (IGF-1) e dell'insulina.

Nelle cagne sottoposte a terapia progestinica, si osserva una produzione di GH da parte delle cellule epiteliali duttali normali e neoplastiche (benigne) della ghiandola mammaria.

9) Considerazioni generali sugli stati iperplastici e neoplastici delle cellule delle ghiandole endocrine

La diagnostica istopatologia degli stati iperplastici e neoplastici delle cellule delle ghiandole endocrine è piuttosto difficoltosa, anche riguardo al fatto che non sono ancora stati definitivamente stabiliti dei criteri citomorfologici. In molte ghiandole a secrezione endocrina coesiste un dualismo citomorfologico: iperplasia/adenoma. Le cellule endocrine eccessivamente e continuamente stimolate da fattori trofici sono predisposte a stati iperplastici e possono poi sviluppare cloni cellulari neoplastici.

Le cellule iperplastiche si differenziano da quelle normali per lieve aumento del citoplasma e per ipercromatismo nucleare.

I noduli iperplastici possono essere popolati da elementi cellulari di derivazione policlonale o monoclonale. Stati di iperfunzione e ipertrofia delle cellule epiteliali iperplastiche sono reversibili dopo interruzione del segnale di sovrastimolazione, mentre stati cronici di iperplasia anche dopo cessazione dello stimolo non mostrano reversibilità di stato.

Anche la differenziazione tra cellule neoplastiche, benigne e maligne, unica-

mente su base morfologica è impegnativa e talvolta non risolutiva. Il Medico Veterinario che ha in cura l'animale affetto da patologie endocrine neoplastiche deve monitorarle con parametri clinici e di laboratorio. Molti tumori sono endocrinologicamente attivi, in modo continuo o saltuario, e nell'animale si manifestano con un corteo sintomatologico specifico.

Dal punto di vista istopatologico un tumore può essere considerato endocrinologicamente attivo se cellule normali, a confine con quelle neoplastiche, o nella ghiandola endocrina omologa controlaterale, si presentano atrofiche per feed-back negativo da iperproduzione ormonale da parte delle cellule neoplastiche.

IPOFISI (*HYPOPHYSIS*) O GHIANDOLA PITUITARIA (*GLANDULA PITUITARIA*)

L'ipofisi è organizzata in tre aree anatomiche distinte: *pars tuberalis*, *pars intermedia* e *pars distalis*. La sua origine embriologica è composta: la *pars distalis* origina dalla evaginazione dorsale del foglietto ectodermico orofaringeo, la c.d. tasca di Rathke, mentre la neuroipofisi (*pars tuberalis*) origina dall'estroflessione ventrale del foglietto neuroectodermico diencefalico. Il punto di fusione dei due succitati foglietti embrionali concorrono a costituire la *pars intermedia* della ghiandola.

La neuroipofisi è popolata da cellule secernenti ossitocina e vasopressina (VPA), mentre la *pars intermedia* è popolata da due tipi cellulari A e B.

Nell'adenipofisi sono riconoscibili 3 tipi cellulari:

- a. Cellule acidofile** identificabili in *somatotrope* e *luteotrope*. Le *cellule somatotrope*, sotto l'azione degli *RHs* (GH-RH e GH-RIH), producono e secernono l'ormone della crescita (**GH e somatotropina**), mentre quelle **luteotrope** stimolate dai *RHs* PRL-RH, PRL-RIH secernono l'ormone luteotrofico (**LTH**) e secernono, o inibiscono, la liberazione della prolattina (**PRL**);
- b. Cellule basofile** includono cellule *gonadotrope* e cellule *tireotrope*. Le cellule **gonadotrope**, stimolate dallo *RHs* LH-RH, secernono l'ormone luteinizzante (**LH**) e l'ormone follicolo stimolante (**FSH**), mentre le cellule **tireotrope**, stimolate dallo *RH* TRH secernono l'ormone tireotrofico (**TSH**).
- c. Cellule cromofobe** includono cellule *corticotrope* e *melanotrope*, stimo-

late dallo *RH* CRH producono pro-opiomelanocortina (POMC) dal cui clivaggio enzimatico derivano l'ormone adrenocorticotropo (**ACTH**), l'ormone stimolante i melanociti (**α** e **β** **MSH**) e le **β -endorfine**.

Il sistema ipotalamo-ipofisi

Struttura e funzione

Il sistema ipotalamo-ipofisi rappresenta un'unità funzionale che si caratterizza per funzioni differenziate (nervose, endocrine, neurovegetative) ma tra loro collegate e correlate, mediante attivazioni e disattivazioni di segnale (*feed-back*), per il mantenimento dell'omeostasi.

Le unità funzionali nervose ipotalamiche sono identificate nei nuclei parvicellulari costituiti da neuroni secernenti i *Releasing Hormones (RHs)* o i *Releasing Inhibiting Hormone (RIH)* che sono i messaggeri attivatori/disattivatori delle cellule dell'ipofisi.

L'ipotalamo ha tre assi funzionali:

asse ipotalamo-neuroipofisi

asse ipotalamo-adenopofisi

asse ipotalamo-ipofisi-surrene

Asse ipotalamo-neuroipofisi

Le connessioni ipotalamo-neuroipofisi sono di tipo nervoso (fibre di neuroni secretori) che collegano i neuroni secretori dei nuclei magno cellulari soprattico e paraventricolare alle cellule della neuroipofisi. Il segnale viaggia dai neuroni secretori, attraverso l'assone, legato a neurofisine, fino alle cellule della neuroipofisi che stimolate, producono e riversano, nel circolo ematico, gli ormoni ossitocina e/o vasopressina (VPA).

Asse ipotalamo adenoipofisi

L'adenopofisi è collegata all'ipotalamo da un sistema vascolo-ematico in cui sono secreti gli ormoni ipotalamici che arrivano all'ipofisi e viceversa. In questo circuito di regolazione e contro-regolazione si assicura l'omeostasi organica ipotalamo-adenopofisi.

Gli ormoni ipotalamici, *Releasing Hormones (RHs)*, agiscono sulla sintesi, sull'accumulo e sul rilascio nel circolo ematico degli ormoni adenoipofisari che, a loro volta, regolano l'attività ormonale di ghiandole, organi e metabolismi ipofisi dipendenti (ovaio, testicolo, tiroide, mammella, corticale del surrene, accrescimento corporeo, ecc).

Il *GnRH* o *releasing hormone* per le due gonadotropine ipofisarie LH e FSH,

agenti sulle ovaie per l'induzione dell'ovulazione;

Un *Releasing Hormone* per la tireostimolina ipofisaria o TRH, agente sulla tiroide;

Un *Releasing Hormone* per l'ormone ipofisario della crescita o GHRH;

Un *Releasing Hormone* per la tropina che stimola la corticale del surrene o CRH, inducendola a sua volta a produrre l'ormone cortisolo.

Asse ipotalamo-ipofisi-surrene

Il cortisolo è secreto nel torrente circolatorio dalle cellule della zona fascicolata della corticale del surrene in risposta alla stimolazione indotta dall'*ACTH*. La cortisolemia, a sua volta, si autoinibisce, tramite *feed-back* negativo, impedendo alle cellule della corteccia surrenalica un'ulteriore liberazione di cortisolo.

L'*ACTH* è secreto in risposta al *CRF* (Corticotropin Releasing Factor o *CRH*), prodotto dai neuroni ipotalamici. La produzione di *CRF* è indotta sia da stimoli fisiologici (ritmo sonno-veglia) sia da stimoli di natura patologica (infezioni, traumi) che sono generalmente indicati come distressor (stress negativo).

Lo stress provoca la liberazione di catecolamine, dalla midollare della ghiandola surrenale, come effetto di risposta ritardata di adattamento alla "difesa" dell'organismo. La risposta istantanea allo stress è di tipo nervoso ed è sostenuta dal Sistema Nervoso Simpatico.

Disfunzioni ipotalamo-ipofisarie e correlazioni endocrino immunologiche

Il Sistema Immuno Competente e il Sistema Endocrino, in condizioni fisiologiche, interagiscono nella regolazione e nella modulazione, a livello cellulare e tissutale, della risposta immunitaria e della reazione flogistica.

In condizioni patologiche gravi dell'organismo, quali stati infettivi-setticemici, stati infiammatori cronici e stati di distress prolungato, l'asse **ipotalamo-ipofisi-surrene** antagonizza il Sistema Endocrino, tramite la liberazione di grandi quantità di cortisolo. Anche altre molecole di natura proteica (citochine), liberate in corso di flogosi possono interagire sull'asse **ipotalamo-ipofisi-surrene**.

Nella flogosi i linfociti e i macrofagi liberano citochine (TNF, IL-1, IL-6) che si legano ai loro recettori specifici per la trasduzione del segnale.

Queste citochine, oltre ad agire sulle cellule *target*, attivano l'asse **ipotalamo-ipofisi-surrene** il quale sintetizza e rilascia corticosteroidi glicocorticoidi che hanno effetti inibitori, per azione anti-infiammatoria, sulle produzioni di leucociti e di citochine.

Sulla membrana delle cellule nervose (neurosecretorie) del nucleo arcuato (ipotalamo) sono presenti recettori per le citochine (IL-1, IL-6 e TNF). La loro attivazione (cellule nervose neurosecretorie), da parte delle citochine, determinano una riduzione di assunzione dell'alimento con conseguenti effetti sull'accrescimento corporeo dell'animale. I neuroni del nucleo arcuato sono inoltre sensibili all'azione di altri ormoni secreti dal pancreas, insulina, e dal **SNED**, leptina e grelina; ormoni che regolano il metabolismo glucidico (insulina) e il metabolismo lipidico (leptina e grelina).

Nelle pecore le endotossine batteriche di *E. coli* interagiscono sulla produzione di GH tramite l'azione delle citochine IL-1 e TNF α . Nelle scrofette e nelle capre prepuberi le stesse citochine interferiscono sulla maturazione sessuale, per una riduzione di produzione di GnRH e di conseguenza di LH.

L'eustress (stress positivo) in forma acuta stimola la liberazione del GHRH dai neuroni secretori parvicellulari ipotalamici e di conseguenza di GH dalle cellule acidofile adenoipofisarie, da cui consegue un incremento, solo temporaneo, dell'accrescimento corporeo.

Nel contesto di uno stato di distress (stress negativo) protratto si registra produzione di somatostatina, ormone GH inibitore, con conseguente diminuzione di secrezione di ormone della crescita.

Il distress protratto provoca pure una diminuzione numerica di cellule GH secernenti a livello di adenoipofisi. Nel distress protratto si osserva pertanto un rallentamento o un arresto della crescita corporea dell'animale.

Negli animali in produzione zootecnica, soprattutto produttori di carne, condizioni di distress persistente provocano turbe dell'accrescimento corporeo con conseguenti e rilevanti danni economici per l'allevatore.

Alterazioni ontogenetiche

Alterazioni di numero

La letteratura riporta casi rarissimi di **ipofisi soprannumerarie**, a oggi, unicamente descritte nelle specie felina ed equina. La struttura ghiandolare non è mai completa ma si tratta di cellule ipofisarie ectopiche rinvenibili lontano (ipofisi cranio-faringea) o nelle strutture anatomiche in prossimità o adiacenti al ricetto della ghiandola (sella turcica) o nell'osso basisfenoide. L'**ipofisi cranio-faringea** deriva da residui vestigiali di elementi epiteliali ipofisari ascrivibili alla chiusura imperfetta del dotto ipofisario o cranio-faringeo. Le cellule ipofisarie ectopiche possono trasformarsi e dare origine a cellule neoplastiche.

Alterazioni di sviluppo

Cisti

La formazione di cisti ipofisarie è di natura congenita ed è legata al differenziamento ontogenetico del **dotto cranio-faringeo (prossimale o distale)** o della **tasca di Rathke**.

Le **cisti del dotto cranio-faringeo prossimale** sono riferibili a residui cellulari indifferenziati, o a elementi differenziati assimilabili a quelli della *pars distalis* della ghiandola pituitaria, che persistono nella zona dorsale della cavità orale (*cavum oris proprium*) lungo il decorso del canale che connette l'ectoderma stomodeo della tasca di Rathke.

Questi elementi vestigiali, conosciuti come ipofisi faringea, sono stati descritti nel cane e nel gatto, ma sono rinvenibili anche in altre specie animali. Nel cane sono colpite soprattutto le razze brachicefaliche e le cisti e la ghiandola pituitaria sono due entità anatomiche separate, mentre nel gatto si può reperire continuità strutturale tra l'ipofisi e le cellule vestigiali residue.

Le cisti appaiono come strutture tubolari rivestite da un monostrato di cellule epiteliali cubiche o cilindriche semplici, simili per morfologia a quelle adenopifisarie.

Le cisti possono avere un diametro di alcuni centimetri ed espandersi in cavità preformate (naso-faringe) determinando l'insorgenza di sintomi respiratori, per protrusione ventrale del palato molle e/o per occlusione della regione caudale delle narici.

Il contenuto cistico è rappresentato da materiale giallo-grigiastro, di consistenza caseosa. La parete della cisti, talvolta ossificata, è rivestita da cellule epiteliali metaplastiche che poi desquamano e si raccolgono nel lume frammentate a lamelle di cheratina.

Le **cisti del dotto cranio-faringeo distale** (cisti sellari) colpiscono soprattutto i cani di razze brachicefaliche, ma sono descritte anche in altre razze canine.

Le cisti sono tappezzate da un monostrato di cellule epiteliali cubico/cilindriche spesso ciliate e nel cavo cistico si rinviene mucina. L'espansione delle cisti può provocare compressione sulle strutture anatomiche contigue (peduncolo ipofisario, rete vascolare portale ipofisaria, eminenza mediana del *tuber cinereum*, adenoipofisi). L'effetto compressivo esercitato dalla cisti può indurre una flogosi locale cui si associano, nella cronicizzazione del processo, quadri di fibro-connettivizzazione dell'ipofisi con conseguenti fenomeni di

ipofunzionalità ghiandolare. Le correlazioni cliniche sono riferibili a deficit visivo (compressione sul chiasma ottico), Diabete insipido (compressione sulla neuroipofisi), atrofia gonadica, diminuzione del metabolismo basale (compressione sull'adenipofisi), obesità e ipoglicemia (compressione sull'ipotalamo).

Le **cisti della tasca di Rathke** derivano da turbe dell'organogenesi della ghiandola pituitaria per difetti di differenziamento del foglietto ectodermico orofaringeo. Le cisti di Rathke sono responsabili del c.d. nanismo ipofisario. La patologia cistica è conosciuta nel cane, nel gatto e nel bovino. Nel cane provoca nanismo ipofisario che è descritto in varie razze (Pastore tedesco, Spitz, Miniature pinscher, Cane da Orso della Carelia). Nel Pastore tedesco il nanismo ipofisario è legato a un gene autosomico recessivo ed è multifunzionale per il contemporaneo deficit di GH, di TSH e di PRL, ma non di ACTH. La teoria di uno stato ipofunzionale ipofisario per azione compressiva della cisti sulla ghiandola pituitaria è confutabile, ma non escludibile, per dissonanza causa/effetto (cisti/nanismo ipofisario). Un'ipotesi patogenetica alternativa propone, come causa di nanismo ipofisario, un difetto primario di differenziamento delle cellule dell'adenipofisi.

In vitelli con patologie dell'accrescimento corporeo assimilabili a nanismo ipofisario, circa il 16% presentavano ipoplasia ipofisaria in presenza di cisti della tasca di Rathke. Negli animali di razza Angus ai quadri patologici dell'ipofisi si associano pure alterazioni della conformazione delle ossa del cranio e delle articolazioni (artrodie) in forma generalizzata.

Ipoplasia e/o aplasia ipofisaria e prolungamento del periodo di gestazione

Alterazioni ontogenetiche della ghiandola ipofisi (aplasia o ipoplasia) nel feto sono state riscontrate nella specie bovina. Le forme conosciute sono due e hanno la stessa eziologia ma un quadro anatomo-patologico diverso.

Nelle razze Guersney e Jersey **l'aplasia adenoipofisaria** è responsabile di un prolungamento della gestazione (fino a 480 giorni), oltre il termine naturale (283-293 giorni). Il feto presenta uno sviluppo corporeo diminuito rispetto agli standard di razza ed è ritenuto in utero. L'anomalia di sviluppo non è solo della ghiandola pituitaria, ma per effetto di una mancata stimolazione di fattori trofici, anche altre ghiandole del Sistema Endocrino presentano ipoplasia: tiroide, gonadi e surreni. Alla nascita i vitelli non sono vitali e presentano malformazioni del SNC (anencefalia, idrocefalo interno, ciclopia), ipotricosi e atresia dell'intestino tenue.

Nelle razze Ayrshire e Frisona il periodo di gestazione è prolungato (fino a 380 giorni). Il feto presenta uno sviluppo corporeo superiore alla norma. La ghiandola pituitaria ha dimensioni normali ma le sue cellule acidofile (GH, LTH, PRL) appaiono degranulate. La corteccia delle ghiandole surrenali appare atrofica, mentre nessuna lesione è riscontrata nelle altre ghiandole a secrezione endocrina. Il feto muore in utero o nasce morto.

L'ingestione di *Salsola tuberculata* causa anch'essa gestazione prolungata negli ovini (220 giorni). I feti mostrano ipotrofia ipofisaria, con cellule secretorie degranulate, e ipoplasia della corteccia surrenalica. Si sospetta che *Salsola tuberculata* contenga sostanze chimiche ad azione inibente sui RHs ipotalamici.

Nelle due forme di gestazione prolungata negli ovini, indotte dall'ingestione di vegetali tossici (*V. californicum* e *S. tuberculata*), si verifica un'interruzione di segnale dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene, la cui attivazione, nel feto, è necessaria per l'induzione al parto.

Patologie disfunzionali dell'adenoipofisi

Ipofunzione

È uno stato funzionale dipendente dalla **mancata o insufficiente secrezione di ormoni adenoipofisari** conseguente a ridotta o assente secrezione di ormoni dall'adenoipofisi per lesioni o dell'ipotalamo o dell'adenoipofisi o dell'asse ipotalamo-ipofisario. Si manifesta con un deficit globale (panipopituitarismo) o selettivo (ipopituitarismo parziale o unitropico) della produzione ormonale, deficit che può essere clinicamente evidente o latente.

Eziopatogenesi: lesioni che comportano ampia distruzione del tessuto ghiandolare dell'adenoipofisi, tumori compressivi, infiammazioni, metastasi neoplastiche, processi di fibrosi, esiti di traumi cranici lesioni ipotalamiche (craniofaringiomi, traumi del peduncolo ipofisario che interrompono la comunicazione tra ipotalamo ed adenoipofisi tramite il circolo portale ipotalamico).

I **deficit unitropici** danno luogo a quadri clinici più sfumati rispetto ai **deficit ormonali multipli o pluritropici** e il panipopituitarismo, che causano quadri clinici più complessi e riguardano contemporaneamente più ormoni adenoipofisari (TSH, PRL, GH).

Deficit unitropici

Nei cani colpiti da deficit di GH, a carattere unitropico, lo sviluppo corporeo

è normale; si manifesta con lesioni dermatologiche dovute all' iposomatotropismo, in un contesto di normalità funzionale delle altre popolazioni cellulari endocrine.

Dal punto di vista macroscopico si osserva alopecia, iperpigmentazione e fragilità cutanea. La dermoistopatologia evidenzia diminuzione, di numero e dimensioni, delle fibre elastiche dermiche e presenza di follicoli c.d. "a fiamma". I follicoli piliferi presentano arresto di crescita del pelo e molti di essi sono in fase catagen. Le disendocrinopatie che comportano uno squilibrio degli ormoni sessuali gonadici o corticosurrenali mimano una situazione dermatologica simile a quella GH responsiva.

Difetti pluritropici

La condizione di panipopituitarismo assoluto è incompatibile con la vita dell'animale, mentre le carenze ormonali relative si caratterizzano con quadri clinici correlati al deficit ormonale specifico.

L'ipopituitarismo congenito e quello acquisito inducono turbe dell'accrescimento somatico con manifestazioni di nanismo armonico (carezza di STH) o disarmonico (carezza di TSH).

La cause più frequenti sono riconducibili a fattori compressivi (cisti della tasca di Rathke), sclerosi ghiandolari, neoplasie espansive locali che inducono un deficit del GH. La fisiopatologia è riconducibile al quadro clinico che si caratterizza per deficit primario di GH (iposomatotropismo) e per deficit secondario di IGF-1 (somatomedina). Il GH regola la secrezione epatica di IGF-1, molecola che ha un'omologia di struttura pari al 50% con l'insulina e pertanto lega gli stessi recettori di membrana potenziando l'azione dell'insulina stessa. L'IGF-1 è un ormone che ha attività sullo sviluppo delle cartilagini e un suo deficit provoca arresto dell'accrescimento dell'animale.

Sono maggiormente colpite le razze canine brachicefale e il Pastore tedesco; nel nanismo ipofisario si osserva rallentamento dell'accrescimento corporeo dal secondo mese di vita, iperpigmentazione cutanea, ipogonadismo, mantello e vocalizzazione infantile.

Nel panipopituitarismo giovanile del cane si evidenzia un deficit pluritropico che interessa la secrezione del TSH e della PRL, ma non dell'ACTH; le lesioni ipofisarie sono riconducibili anche alla presenza di cisti della tasca di Rathke.

Alterazioni circolatorie

L'iperemia passiva dei vasi ipofisari si riscontra nel cane colpito dall'ade-

novirus dell'epatite virale in forma acuta o affetto da sindrome uremica. La congestione dei vasi ipofisari si rileva anche in corso di insufficienza cardio-circolatoria, con conseguente atrofia cellulare e fibrosi della ghiandola. Nel cavallo intensi fenomeni di iperemia passiva si osservano in corso di coliti-tifliti e in casi rari, nelle vasculopatie microtrombotiche da infezioni micotiche (*Aspergillus niger*).

Si possono poi osservare fenomeni emorragici puntiformi (coagulopatie) o estesi, anche mortali per frattura dell'osso basisfenoide.

Alterazioni regressive

Nella senescenza la ghiandola pituitaria del cane e del cavallo può presentare quadri di atrofia indotti da sclero-ialinosi e mineralizzazione. Le cause di atrofia ipofisaria sono le cisti acquisite per accumulo di secreto o per la presenza di parassiti (*Sarcocisti* spp). Cisti acquisite si osservano anche nell'ipofisi di vacche in stato di chetosi.

La necrosi dell'ipofisi è descritta in corso d'infezioni virali acute (epatite nel cane e peste nel suino) e di infestazioni parassitarie nel cavallo da *Halicephalobus gingivalis* (ex *Micronema deletrix*).

Infiammazioni

Le infiammazioni della ghiandola pituitaria sono definite ipofisiti, possono essere **primitive** o **secondarie** per diffusione, ematogena o per contiguità, da processi flogistici presenti in altri organi, apparati e sistemi.

Le infiammazioni primitive sono provocate da compressione per aumento volumetrico della ghiandola (per presenza di cisti o neoplasie espansive) contro le pareti inestensibili della sella turcica.

Le infiammazioni secondarie sono successive a processi infiammatori purulenti a livello encefalico e/o delle meningi, o delle strutture anatomiche in contatto con il mondo esterno (cavo nasale, seni paranasali, retrofaringe, orecchio). Causa di ipofisiti sono le polmoniti nel suino e le reticolo-peritoniti nel bovino. La sindrome da ascesso ipofisario è secondaria a processi flogistici purulenti in altre strutture anatomiche (bovino: naso e corna).

Lesioni necrotico-emorragiche della ghiandola si osservano in corso di epatite virale del cane e nelle pesti suine. In passato in seguito ad epidemie di Afta epizootica negli allevamenti bovini, nella forma post-aftosa, si segnalavano quadri lesivi ipofisari con ipertricosi. Le lesioni erano repertabili soprattutto all'adenoipofisi e si caratterizzavano istologicamente per la presenza di infiltrati linfocitari perivascolari.

È raro il riscontro di forme flogistiche granulomatose (TBC nel bovino, toxoplasmosi), che comunque prediligono come sede d'insorgenza la neuroipofisi.

Iperfunzione

L'iperfunzione adenoipofisaria è determinata soprattutto da ipersecrezione cronica di GH e di ACTH da parte di adenomi ipofisari. Si riconoscono diverse forme patologiche: **il gigantismo ipofisario, l'acromegalia e il morbo di Cushing** (l'ipersecrezione ipofisaria di ACTH è ritenuta la causa più frequente di ipercortisolismo o sindrome di Cushing).

Acromegalia

Nel gatto l'acromegalia è causata dall'ipersecrezione cronica di GH da parte di un adenoma funzionale dell'ipofisi (macroadenomi anche di 1 cm di diametro). L'acromegalia è una sindrome caratterizzata nei carnivori domestici dall'insorgenza di diabete mellito insulino-resistente, per l'azione diabetogena del GH, che rappresenta un importante modulatore della sensibilità all'insulina, da un progressivo aumento della produzione di tessuto connettivo e osseo, da megalia di numerosi organi. I sintomi nel gatto sono rappresentati da poliuria, polidipsia, polifagia, diabete mellito, megalia di fegato, reni, cuore, lingua. Si osservano inoltre deformità delle ossa del cranio e della mandibola con aumento di volume della testa e prognatismo .

Nel **cane l'acromegalia** è causata dall'azione dei progestinici sull'espressione genica del GH da parte delle cellule epiteliali della ghiandola mammaria, mentre raramente è di natura neoplastica. In un Doberman pinscher, con diabete mellito insulino-resistente, è stato rilevato un adenoma ipofisario di 0,5 cm di diametro. Le cellule neoplastiche erano marcatamente immunopositive al GH. In un altro caso la neoplasia (astrocitoma) era localizzata a livello ipotalamico il che fa supporre una compromissione di secrezione di somatostatina o di un eccesso secretivo di GHRH.

Nel cane, oltre ai quadri acromegalici classici di aumento della massa corporea, sono reperibili deformità delle ossa craniche (mascelle prominenti, prognatia mandibolare, aumento dei diastemi interdentali), artropatie degenerative e visceromegalia. Si osserva, inoltre, cardiomiopatia dilatativa, lesioni cutanee, comparsa di noduli mammari e perdite vaginali (piometra a cervice aperta).

Le lesioni cutanee sono limitate alle regioni della testa e del collo e si presentano anche nelle parti distali degli arti (ipercheratosi, ipergranulosi, iperplasia dermica ed epidermica, mixedema).

Patologie disfunzionali della neuroipofisi

Le lesioni della **neuroipofisi** si traducono in una diminuzione di produzione di **vasopressina (AVP) o ormone antidiuretico (ADH)**, ormone vitale nell'omeostasi idrodinamica dell'organismo.

La patologia è definita **Diabete insipido centrale** (per eliminazione di grandi quantità di urina ipotonica) che si differenzia dal **Diabete insipido nefrogenico primario**, causato da un difetto congenito responsabile dell'apertura dei "canali dell'acqua" e dal **Diabete insipido secondario** a numerose condizioni patologiche (piometra, ipercalcemia, insufficienza epatica, shunt portosistemici, iperadrenocorticismo, ipoadrenocorticismo, ipertiroidismo, iperaldosteronismo primario, pielonefriti, ipokaliemia, acromegalia, policitemia).

Il **Diabete insipido centrale o ipotalamico** si instaura in tutte le condizioni che danneggiano il sistema neuroipofisario (nuclei ipotalamici sopraottico e paraventricolare), il peduncolo ipofisario e la neuroipofisi; è descritto nel cane, nel gatto, nel bovino e nell'equino.

Nel cane e nel gatto le cause più comuni sono i traumi cranici (accidentali, chirurgici), le neoplasie e le malformazioni a livello ipofisario/ipotalamico (cisti).

I **tumori intracranici** responsabili di **Diabete insipido centrale** sono il craniofaringioma, l'adenoma cromofobo ipofisario, il carcinoma cromofobo ipofisario. Nel cane diverse neoplasie metastatiche ipofisarie e ipotalamiche (carcinoma mammario, linfoma, melanoma e carcinoma pancreatico) possono causare Diabete insipido centrale.

Tumori dell'ipofisi

(WHO-AFIP, Kiupel M. et al. Tumors of the Endocrine System of Domestic Animals, 2nd ed., 2008)

adenoipofisi	adenoma della pars distalis
	adenoma corticotropo
	adenoma somatotropo
	adenoma lattotropo
	adenoma tirotropo
	adenoma gonadotropo
	adenoma pluriormonale
	adenoma null cell
	adenoma della pars intermedia
	adenoma corticotropo
	adenoma melanotropo
	carcinoma pituitario
neuroipofisi	pituicitoma (astrocitoma pituitario)
	tumore a cellule granulari
	ependimoma
	gangliocitoma
lesioni pseudotumorali	iperplasia
	cisti
tumori secondari	
regione sellare	tumori germinali soprasellari
	craniofaringioma
	meningioma

I **tumori epiteliali primitivi** possono essere **funzionali** con l'iperproduzione di uno specifico ormone che stimola gli organi target o **non funzionali**, ma compressivi sulle strutture ipofisarie adiacenti. Negli animali domestici i tumori epiteliali primitivi hanno un'incidenza inferiore rispetto all'uomo; si classificano in forme benigne (adenomi) e maligne (carcinomi). Nella ghiandola pituitaria è descritta un'unica neoplasia maligna, il **carcinoma cromofobo non funzionale** della pars distalis. I tumori a carico della porzione anteriore dell'ipofisi, sono prevalentemente adenomi e sono costituiti da **cellule cromofobe (adenoma funzionale a cellule cromofobe ACTH secernente,**

frequente nel cane), da **cellule acidofile (adenoma funzionale a cellule acidofile GH o PRL secernente)**, frequente nell'uomo e raro negli animali domestici), mentre sono di raro riscontro l'adenoma delle **cellule basofile** e il carcinoma delle cellule cromofobe.

L'adenoma funzionale (cromofobo) ACTH secernente della *pars distalis*,

Si osserva prevalentemente in cani adulti o anziani con una predisposizione maggiore nelle razze Barbone Nano, Bassotto, Beagle, Boxer, Labrador, Pastore Tedesco e i vari Terrier. Induce ipersecrezione di ACTH ed è responsabile di ipercortisolismo (morbo di Cushing) con ipertrofia bilaterale della corticosurrenale. Istologicamente le cellule tumorali appaiono ben differenziate, poligonali, con nucleoli prominenti e rare figure mitotiche, arrangiate in cordoni o in gruppi cellulari.

Adenoma non funzionale (cromofobo) della *pars distalis*

I sintomi sono correlati agli effetti compressivi del tumore: diminuzione della secrezione di GH (atrofia muscolare) o di gonadotropine (atrofia gonadica), alterazioni idrodinamiche per compressione sulla neuroipofisi. Istologicamente le cellule neoplastiche si presentano di forma cubica o poligonale e sono suddivise da esili tralci di tessuto connettivo.

Adenoma della *pars intermedia* (funzionale e non funzionale)

È descritto nel cavallo, nel cane e con minor frequenza, anche in altre specie animali.

Nel cavallo è il tumore ipofisario di maggior riscontro, soprattutto negli animali anziani con prevalenza nel genere femminile; clinicamente i soggetti manifestano poliuria, polidipsia, iperglicemia, debolezza muscolare, iperpiressia intermittente, iperidrosi e irsutismo.

L'alterazione del metabolismo glicidico, l'irsutismo e l'iperidrosi sono considerati come disturbi primitivi ipotalamici a seguito dell'effetto compressivo dell'adenoma della *pars intermedia* sull'ipotalamo. In alcuni casi si osserva anche uno stato endocrinologicamente attivo del tumore che comporta un lieve aumento della cortisolemia e dell'immunoreattività per l'ACTH.

L'adenoma si presenta di colore bianco-giallastro, ha aspetto multinodulare e può inglobare la *pars tuberalis* della ghiandola pituitaria. Nel contesto ghiandolare si possono osservare aree di necrosi e di emorragie. Istologicamente il tumore appare incapsulato ed è suddiviso in cordoni cellulari da sepimenti di tessuto connettivo.

Nel **can**e l'**adenoma della pars intermedia** si rileva soprattutto nelle razze non brachicefale; il tumore può essere funzionale (ACTH secernente) e comporta ipercortisolismo (morbo di Cushing) con iperplasia bilaterale della corticale surrenalica per proliferazione delle cellule di tipo B ACTH positive, presenti nella pars intermedia dell'ipofisi; le cellule neoplastiche sono arrangiate in strutture follicolari o in nidi cellulari interposti tra i follicoli. Gli adenomi della pars intermedia **non funzionali** nel cane sono compressivi e determinano stati di ipopituitarismo o di Diabete insipido.

Adenoma acidofilo (GH o PRL secernente) della pars distalis

È un raro reperto nelle specie felina, canina e ovina, mentre è relativamente comune nel ratto. È un tumore endocrinologicamente attivo e causa **acromegalia** nel cane e nel gatto. Negli **ovini induce** aumento della ghiandola mammaria e galattorrea, probabilmente per ipersecrezione di prolattina da parte delle cellule neoplastiche che istologicamente appaiono voluminose, disposte in colonne irregolari lungo il decorso dei capillari e delle trabecole connettivali.

Adenoma basofilo funzionale (TSH secernente) della pars distalis

È una rara neoplasia che si caratterizza per la presenza di cellule neoplastiche basofile. La descrizione più accurata è riferibile a un caso di adenoma basofilo in una scimmia (*Macaca mulatta*) di sesso maschile; l'adenoma, incapsulato, mostrava elementi poligonali raggruppati in lamine o arrangiati in strutture follicolari. Le cellule neoplastiche, prive di granuli, presentavano immunopositività per TSH.

Carcinoma cromofobo non funzionale della pars distalis

È una neoplasia maligna che si reperta meno frequentemente rispetto alle forme benigne. Colpisce i cani vecchi e le vacche ed è funzionalmente inattivo. È un tumore invasivo che infiltra il cervello e l'osso basisfenoide. La cellularità è elevata e spesso si associano aree di necrosi e di emorragie parenchimali. Le cellule tumorali appaiono di grandi dimensioni, con fenomeni di anisocariosi e con indice mitotico elevato. Le metastasi interessano i linfonodi regionali, la milza e il fegato.

Craniofaringioma

È una **neoplasia benigna** che deriva da disturbi ontogenetici dell'ectoderma orofaringeo (tasca di Rathke). È un tumore dei giovani animali ed è una delle

cause del **panipopituitarismo giovanile** e del **nanismo ipofisario** del cane. Si sviluppa nella regione soprasellare ed è spesso una neoplasia voluminosa che può incorporare anche alcuni nervi cranici ed estendersi nell'ipotalamo e nel talamo.

I segni clinici sono legati al coinvolgimento primario dell'ipofisi e secondariamente delle strutture coinvolte dagli effetti espansivi e inclusivi della neoplasia (ipotalamo, talamo, nervi cranici).

La neoplasia alterna aree cistiche ad aree solide. La componente solida presenta aree cellulate da elementi epiteliali di forma cubica, cilindrica o squamosa, alternate ad aree focali di mineralizzazione. La componente cistica si presenta caratterizzata da spazi rivestiti da epitelio cilindrico o squamoso ripieni di detriti di cheratina e colloide.

Tumori metastatici

L'ipofisi è occasionalmente sede di metastasi neoplastiche. Nel cane sono descritte metastasi di melanoma, di tumore venereo trasmissibile, di linfoma e di carcinoma mammario. Nel bovino sono state repertate metastasi di linfoma. Tumori espansivi cerebrali (meningioma, glioma infundibolare, ependimoma) o infiltrativi (osteosarcoma dell'osso basisfenoidale) sono anch'essi causa di lesioni ipofisarie.

GHIANDOLA PINEALE O EPIFISI (*GLANDULA PINEALIS*)

Sede, ontogenesi, struttura e funzione

La ghiandola pineale trae il suo nome dal latino *pineae* (pigna-pinolo) e secondo Cartesio, nell'uomo era la sede dell'anima: "*res cogitans e res extensa*". Per *res cogitans* il filosofo intende la realtà psichica cui attribuisce le qualità: inestensione, libertà e consapevolezza. Per Cartesio la *res extensa* invece rappresenta la realtà fisica, che è estesa, limitata e inconsapevole.

La ghiandola pineale è sita nell'epitalamo ed è popolata dai pinealociti. L'ontogenesi della ghiandola è da riferire a una piccola estroflessione del tetto del diencefalo. Nella ghiandola si rinvengono anche dei concrementi definiti "sabbia cerebrale" o "corpora arenacea". Le funzioni dell'epifisi, ancora ben da definire, sono legate ai ritmi circadiani e stagionali della luce visibile (400 e 700 nanometri di lunghezza d'onda, di frequenza tra 750 e 430 THz). L'epifisi secreta l'ormone melatonina (prodotto di acetilazione e metilazione del neurotrasmettitore serotonina) nei periodi d'oscurità (notte) e la sua produzione non è mediata da alcuna tropina. La sua secrezione, minima nelle ore diurne e massima nelle ore notturne, è inibita dalla luce ed è dose-dipendente.

La riproduzione di molti mammiferi domestici è stagionale (primavera) ed è legata all'aumento delle ore di luce giornaliera, che, come precedentemente espresso, inibisce la produzione e il rilascio di melatonina. La progressiva inibizione della melatonina, per aumento del fotoperiodo giornaliero, favorisce il rilascio di GnRH cui consegue l'ovulazione.

Patologie dell'epifisi, non sintomatiche, sono state descritte nel cavallo (necrosi, calcificazione, cisti, depositi di emosiderina e petecchie emorragiche). Nel cavallo con uveite ricorrente è stata segnalata una flogosi della ghiandola pineale (pinealite o epifisite) caratterizzata dalla presenza di elementi linfocitari e granulocitari eosinofili. In un mulo con una grave sintomatologia neurologica è stata repertata, in sede necroscopica, ipertrofia della ghiandola pineale causata dall'iperplasia dei pinealociti; la comparsa di sintomi neurologici era da attribuire agli effetti compressivi che la ghiandola esercitava sulle strutture nervose vicine.

Singole segnalazioni di tumori della ghiandola pineale sono state riportate nel cavallo, nel bovino, nella capra, nella zebra e nella volpe grigia, mentre nel ratto le segnalazioni sono più frequenti, ma comunque rare (14 casi su 13.642 ratti esaminati).

Nel ratto la classificazione dei tumori dell'epifisi è analoga a quella dell'uomo: pinealocitoma (cellule ben differenziate), pineoblastoma (cellule anaplastiche) e pineolocitoma-pineoblastoma misto. Tumori dell'epifisi non sono mai stati descritti nel cane e nel gatto, anche se sono le specie animali con la più alta incidenza, relativa, di tumori endocranici.

Negli animali, a oggi, non sono descritte, a differenza dell'uomo, fenomenologie ipo e iperfunzionali della ghiandola pineale (ipomelatonismo e ipermelatonismo).

TIROIDE (*GLANDULA THYROIDEA*)

Sede, ontogenesi, struttura e funzione

Nei ruminanti, nell'equino e nei carnivori domestici la tiroide è formata da un lobo destro e da un lobo sinistro collegati a ponte da un istmo (che nei carnivori domestici può mancare), disposti sulla superficie laterale della trachea. L'istmo è ghiandolare nel bovino, mentre è fibroso nella specie ovi-caprina e equina. Nel suino la ghiandola è unica ed è posta sulla linea sagittale della trachea nella regione cervicale caudale.

La tiroide trae origine dalla parete ventrale dell'intestino branchiale del foglietto endodermico. L'abbozzo primordiale si osserva tra le branche man-

dibolari alla base della lingua e nei movimenti di discesa del cuore lo segue fino al raggiungimento del suo posizionamento orto-anatomico. Le cellule embrionali, da cui trae origine la tiroide, sono in relazione con la base della lingua fino al sacco aortico e questo spiega la presenza di parenchima tiroideo accessorio dalla base della lingua sino al mediastino medio. Il parenchima tiroideo accessorio può subire trasformazioni neoplastiche. Nel 50% dei cani adulti il parenchima tiroideo accessorio, delle dimensioni di 2-5 mm, è immerso nel tessuto adiposo che avvolge l'aorta intrapericardica. Istologicamente sono presenti le strutture follicolari tiroidee contenenti sostanza colloide, mentre sono assenti le cellule parafollicolari (cellule C).

Le cellule follicolari ectopiche diventano attive in caso di ipofunzionalità tiroidea; rispondono al TSH, aumentano di numero e producono adeguate quantità di ormoni triiodotironina (T3) e tiroxina o tetraiodotironina (T4).

La tiroide è popolata da 2 diversi tipi di cellule: le **cellule follicolari** e le **cellule parafollicolari o cellule C**. Le prime sintetizzano gli ormoni T3 (triiodotironina) e T4 (tetraiodotironina o tiroxina), le seconde l'ormone calcitonina. Gli ormoni T3 e T4 sono assemblati, nel lume del follicolo, per alogenazione della tirosina all'interno della tireoglobulina.

Lo stimolo a produrre T3 e T4 avviene tramite la secrezione di TRH, dai nuclei ipotalamici, nel circolo portale ipofisario. Nell'adenoipofisi le cellule basofile sotto l'azione del TRH producono il TSH, poi captato dalle cellule follicolari per sintetizzare gli ormoni iodinati. Gli ormoni T3 e T4 sono autoregolatori per *feed-back* negativo sull'ipotalamo e sull'adenoipofisi soprattutto da parte del T3.

L'azione fisiologica del T3 e del T4 si esplica su più cellule legandosi a recettori nucleari. Il T3 e il T4 regolano i metabolismi (glicolisi, gluconeogenesi, lipogenesi, consumo dell'ossigeno a livello di tutti i tessuti, miocardio in particolare), la trasmissione nervosa e lo sviluppo cerebrale negli animali giovani.

La calcitonina è un ormone polipeptidico (32 aminoacidi) secreto dalle cellule parafollicolari o cellule C della tiroide nei mammiferi e dal tessuto ultimo branchiale nelle specie aviarie. La concentrazione di ioni calcio nei fluidi extracellulari è lo stimolo principale per la secrezione di calcitonina. L'ipercalcemia aumenta la velocità di secrezione di calcitonina preformata dalle cellule parafollicolari, per rapido rilascio dell'ormone. La diminuzione del calcio ematico riduce lo stimolo di secrezione della calcitonina. L'immagazzinamento di grandi quantità di ormone preformato dalle cellule C e il suo rapido rilascio, in risposta a un moderato aumento dei livelli circolanti di cal-

cio, probabilmente riflette il ruolo fisiologico della calcitonina come ormone di “emergenza” per proteggere l’organismo contro fenomeni ipercalcemici.

Alterazioni ontogenetiche

L’**aplasia** e l’**ipoplasia** della ghiandola sono rare condizioni alterative dello sviluppo e possono presentarsi in forma mono o bilaterale. Clinicamente l’animale colpito può presentare nanismo disarmonico e altre manifestazioni di ipofunzionalità tiroidea precoce (sviluppo anomalo del SNC).

L’**ipotiroidismo congenito** è stato segnalato in cuccioli di cane Scottish Deerhound, in cui la ghiandola era costituita da piccoli follicoli con scarsa o assente sostanza colloide. La ghiandola pituitaria, di dimensioni nella norma, appariva popolata da poche cellule acidofile, con un’alta percentuale di elementi epiteliali vacuolizzati simili a quelli che si riscontrano dopo tiroideotomia. Nei cuccioli con tiroide ipoplastica si rilevava ritardo dell’accrescimento corporeo, pelo sottile, debolezza e torpore e ridotti livelli di T4 plasmatici anche dopo stimolazione esogena con TSH.

Le **cisti del dotto tireoglossa** si osservano soprattutto nelle specie canina e suina. La formazione delle cisti è dovuta alla persistenza di residui embrionali del dotto tireoglossa non involuti. Nel cane le cisti si presentano come masse fluttuanti site nella regione ventrale del collo lungo la linea mediana. La popolazione cellulare è costituita da elementi assimilabili a cellule epiteliali follicolari, disposti in pluristrato e organizzati in follicoli contenenti, talvolta, sostanza colloide. Tali cellule possono subire una trasformazione neoplastica maligna (carcinoma papillare).

Oltre alle cisti summenzionate altre cisti sono reperibili nella regione e appartengono ad altri organi del Sistema Endocrino (paratiroidi) o alle ghiandole salivari (mucocele).

Alterazioni regressive

Nel **cane adulto o anziano** non è raro il riscontro, a livello dei follicoli tiroidei, di formazioni sferiche o granulari, basofile, espressione di depositi di minerali su aggregati di sostanza colloide definiti “**corpora amilacea**”. La mineralizzazione (calcificazione) si osserva in un contesto ematochimico di normalità della calcemia e della fosforemia. La mineralizzazione dei capillari sanguigni interfollicolari è invece legata a uno stato organico di nefropatia cronica.

L’accumulo di **lipofuscina** nelle cellule follicolari si riscontra in varie specie animali e più frequentemente nei soggetti anziani. La presenza di lipofuscina

nelle cellule follicolari non interferisce con la funzionalità endocrina della ghiandola. La tiroide appare di colore rosso marrone e progressivamente in-scurisce con la senescenza.

La presenza di **sostanza amiloide** è una condizione documentata nel cane e nel gatto (razza abissina in particolare), nel bovino e raramente in altre specie animali. L'amiloide, reperibile nell'interstizio dei follicoli tiroidei, è espressione soprattutto nel cane e nel bovino di una condizione patologica generalizzata, come conseguenza di una protratta stimolazione antigenica dovuta a processi suppurativi in altri organi.

L'accumulo di sostanza amiloide nell'interstizio dei follicoli, determina compressione dei follicoli e instaura una condizione di ipofunzionalità tiroidea.

La **sclerosi** e l'**atrofia** del parenchima tiroideo sono descritte nelle vacche di razza Jersey; l'eziopatogenesi è ancora incerta, ma si pensa che questi fenomeni degenerativi siano legati all'eccessiva presenza di iodio nella dieta.

L'esame istologico della tiroide di suini deceduti per morte cardiaca o "Herztod" si caratterizza per la totale assenza di sostanza colloide nei follicoli, in concomitanza di gravi fenomeni di iperemia passiva. L'ipotesi patogenetica è che la repentina e massiva congestione, per insufficienza cardio-circolatoria acuta, comprime la ghiandola e i follicoli si svuotino del proprio contenuto. La teoria è ampiamente confutabile e necessita di conferme.

Patologie disfunzionali della ghiandola tiroide

Le disfunzioni delle cellule follicolari della tiroide sono identificabili in uno stato di ipofunzione o di iperfunzione, mentre per le cellule parafollicolari (cellule C) si conosce unicamente uno stato di iperfunzione.

Ipofunzione

Alterazioni morfologiche e funzionali della tiroide portano a una carente produzione di ormoni tiroidei (T3 e T4) e questa condizione patologica è conosciuta con il termine di **ipotiroidismo**.

L'ipotiroidismo è descritto nel cane, nel gatto, nei vitelli, nei suini e negli ovi-caprini.

L'ipotiroidismo è classificato come **primario e/o secondario**. Una **forma terziaria**, descritta nell'uomo e causata da una diminuzione di TRH per lesioni croniche ai neuroni peptidergici dei nuclei ipotalamici sopraottico e paraventricolare, non è ancora stata segnalata nel cane e nel gatto, anzi nella specie felina non è mai stata descritta neppure la forma secondaria, la cui patogenesi è legata a una diminuzione di TSH per lesioni croniche all'ipofisi.

Nel cane l'ipotiroidismo ha una prevalenza nella popolazione canina variabile tra lo 0,2% e lo 0,8%. La diagnosi è formulata attorno ai 7 anni di vita, sono maggiormente colpite le razze Golden retrievers e Dobermann pinscher. Studi sul rischio di ipotiroidismo in relazione al genere, in animali sterilizzati o sessualmente intatti, hanno generato risultati contrastanti.

Nella **forma primaria**, ben documentata nel cane e meno nel gatto, si riconoscono cause **iatrogene**, **infiammatorie** (tiroiditi linfocitarie) e **idiopatiche** (atrofia follicolare idiopatica). Tra le **cause primarie** va inoltre annoverata la presenza di neoplasie, primitive o secondarie, che infiltrano e distruggono il parenchima tiroideo limitandone la sua funzione.

Le **forme iatrogene** sono dovute alla somministrazione di sostanze tossiche o a terapie tireostatiche utilizzate per la terapia dell'ipertiroidismo (propiltiouracile e metimazolo). L'ablazione chirurgica della ghiandola è pure causa di ipofunzione tiroidea. Tra i processi infiammatori, la tiroidite linfocitaria rappresenta una delle più frequenti cause di ipotiroidismo nel cane; la patogenesi della **tiroidite linfocitaria** è riferibile, come nell'uomo, alla produzione di autoanticorpi contro la tireoglobulina, contro la tireoperossidasi (antigene microsomiale) o contro i recettori del TSH.

Altra causa di ipotiroidismo primario è identificabile **nell'atrofia follicolare idiopatica** del parenchima tiroideo **in cui i lobi tiroidei appaiono di piccole dimensioni** e di colore più chiaro. I follicoli sono atrofici, rivestiti da cellule epiteliali cilindriche con scarsa quantità di sostanza colloidale. L'evoluzione della patologia è legata alla comparsa di fenomeni degenerativi e atrofici. I follicoli adiacenti, non coinvolti dal processo morboso, si presentano normo strutturati e funzionanti. Nella ghiandola si osservano anche aggregati di cellule parafollicolari.

Nel cane colpito da atrofia idiopatica follicolare si può osservare, saltuariamente, la presenza di microadenomi capsulati o quadri nodulari di iperplasia delle cellule follicolari.

Nel **cane**, come nell'uomo, l'**ipotiroidismo secondario** è legato al **mancato rilascio di TSH** per disfunzione o per mancato differenziamento delle cellule tireotrope della *pars distalis* della ghiandola pituitaria.

Le cause più comuni del mancato differenziamento delle cellule tireotrope sono state descritte nel paragrafo delle alterazioni ontogenetiche della ghiandola pituitaria (**Cisti di Rathke, deficit pluritropici dell'adenoipofisi**), mentre le cause più frequenti di deficit di secrezione del TSH sono da ascrivere alla distruzione delle cellule ipofisarie (tumori della *pars distalis*). Terapie ormonali (corticosteroidi), stati ormonali (fase progestinica nella cagna, gra-

vidanza), stati di malattia, anestesie, possono determinare cambiamenti del livello plasmatico degli ormoni tiroidei e anche del TSH.

Nell'**ipotiroidismo secondario** la tiroide appare popolata da follicoli, rivestiti da elementi epiteliali cubici, ripieni di sostanza colloide PAS positiva.

Com'è noto l'azione degli ormoni tiroidei interessa tutte le cellule dell'organismo e pertanto un deficit ormonale della tiroide si riflette sullo stato metabolico funzionale di tutto l'organismo.

Nel 60-80% dei cani si osserva la comparsa di lesioni cutanee riferibili a ipercheratosi, iperpigmentazione e mixedema. Nel cane ipotiroideo è poi frequente il riscontro di infezioni cutanee ricorrenti quali follicoliti, foruncolosi e piodermiti sostenute da batteri, da *Malassezia* spp e da Demodex .

Nel cane ipotiroideo è frequente l'obesità che, prima di essere correlata all'ipotiroidismo, deve essere differenziata da quella di origine dietetica; nelle femmine fertili si osservano interstrio prolungato, estro silente, mancata ovulazione, aborto spontaneo, ecc.

Nel maschio fertile si rileva diminuzione della libido, ipotrofia testicolare, ipospermia e azospermia.

Compaiono sintomi nervosi per lesioni sia del Sistema nervoso periferico (SNP) sia a livello di nervi cranici (facciale, trigemino, vestibolo-cocleare).

Nell'ipotiroidismo il cuore può presentare bradicardia, basso voltaggio del complesso QRS e lesioni riferibili a cardiomiopatia dilatativa. Sono state descritte anche lesioni oculari quali lipidosi corneali, uveiti, glaucoma, distacco di retina, ecc.

L'ipotiroidismo nel gatto non ha ancora certezze eziologiche. Tra le varie cause sono state invocate sostanze gozzigene (sostanze ad attività antitiroidea) presenti nei "petfood" inscatolati (iodio, ftalati, resorcinolo, polifenoli, bifenili policlorinati). Molte di queste sostanze sono metabolizzate per glucorinizzazione a livello epatico, processo molto lento nel gatto. Nei cibi inscatolati per gatti può essere presente la soia per aumentare il tenore proteico dell'alimento; nella soia sono contenuti due isoflavonoidi, la genisteina e la daidzeina, che hanno effetto inibitorio sulla tiroide-ossidasi, enzima essenziale per la biosintesi degli ormoni tiroidei.

Ipotiroidismo congenito e la sindrome d'immaturità tiroidea dei puledri

La patologia è stata segnalata per la prima volta all'inizio degli anni '80 del XX secolo, in Canada, nello stato dell'Alberta. La sindrome non mostra predilezione di razza, poiché le lesioni sono state descritte nei purosangue, negli Standardbreds, nei Quarter Horse, negli arabi, negli Appaloosa e anche negli incroci. Tutti i puledri colpiti hanno avuto una età gestazionale prolunga-

ta (365-400 giorni). È una patologia neonatale caratterizzata da dimensioni pressoché normali della ghiandola che a livello microscopico mostra iperplasia delle cellule follicolari. La patologia tiroidea è accompagnata anche da anomalie congenite, multiple, dell'apparato muscolo-scheletrico. L'eziologia è ancora sconosciuta ma non si escludono errori dietetici nella madre (diete contenenti alte concentrazioni di nitrati e/o carenza di iodio). I pulcini alla nascita presentano malformazioni muscolo-scheletriche caratterizzate da flessione degli arti anteriori, rottura dei tendini dei *m. extensor digit*, prognatia e immaturità delle ossa carpali e tarsali.

Iperfunzione

La patologia è conosciuta nell'uomo come morbo di Flajani-Basedow o morbo di Graves

L'iperfunzione tiroidea o ipertiroidismo (tireotossicosi) in campo medico-veterinario è una patologia tipica della specie felina, segnalata con minor frequenza anche in quella canina.

L'ipertiroidismo si manifesta con un'eccessiva produzione e secrezione di ormoni tiroidei (T3 e T4). Nel gatto l'ipertiroidismo è primario e non dipende da disfunzioni ipotalamiche o della ghiandola pituitaria: è legato a patologie intrinseche ai lobi tiroidei (nel 30% dei casi solo un lobo mentre nel 70% dei casi entrambi i lobi sono coinvolti da lesioni iperplastiche o neoplastiche.

L'iperplasia (adenomatosa) multinodulare e l'adenoma delle cellule follicolari sono repertati nel 70-75% dei gatti adulti o anziani con sintomi di ipertiroidismo.

Tra le due forme patologiche la più frequente è l'iperplasia (adenomatosa) multinodulare che si caratterizza per la comparsa, su entrambi i lobi tiroidei del gatto, di micronoduli, solidi o cistici, spesso non facilmente rilevabili macroscopicamente (da meno di 1 mm a più di 3 mm), popolati da follicoli di forma irregolare, ripieni di colloide e rivestiti da cellule epiteliali di aspetto cubico.

Cisti ripiene di colloide sono spesso repertate vicino ai noduli iperplastici.

Le patologie neoplastiche tiroidee benigne e maligne, come già evidenziato, sono anch'esse causa di ipertiroidismo.

Altro fattore eziologico è la carenza di selenio; il selenio entra nelle selenio proteine, la glutatione perossidasi e la tioredossina-disolfuro-reduttasi, enzimi che proteggono le cellule follicolari dai danni ossidativi, inoltre è un fattore di crescita e la sua presenza nella dieta gioca un ruolo nello sviluppo del gozzo nodulare (tossico) del gatto.

In alcuni gatti ipertiroidi sono stati evidenziati altri fattori quali la diminuzione delle Proteine Gs (trasduttrici il segnale) che attivano la secrezione degli ormoni tiroidei; mutazione del gene $Gs\alpha$, probabilmente coinvolto nella genesi dell'iperplasia (adenomatosa) multinodulare.

L'ipertiroidismo si presenta nel gatto ad un'età media di 12-13 anni, senza prevalenza di genere e di razza. I gatti ipertiroidi, nell'80% dei casi, sono cachettici e presentano sintomi gastroenterici (vomito e diarrea), tachicardia, dispnea e gozzo palpabile.

Iperfunzione delle cellule parafolicolari (cellule C)

Sindromi associate ad anomalie della secrezione di calcitonina sono poco frequenti negli animali domestici. L'ipersecrezione di calcitonina è stata riportata nel toro e nei ratti per presenza di neoplasie primitive delle cellule parafolicolari. Nei tori affetti da questa neoplasia si osserva osteosclerosi.

Iperplasia o gozzo

Il gozzo o struma tiroideo è una patologia di natura iperplastica della tiroide descritta in molte specie animali. Le cause sono legate alla carenza o all'eccesso di iodio nella dieta, alla presenza di sostanze gozzigene nell'alimento (brassicacee o composti chimici) o all'alterata biosintesi degli ormoni tiroidei. Si differenziano diverse forme di gozzo; 1) gozzo parenchimatoso, 2) gozzo colloide, 3) gozzo nodulare, 4) gozzo disormonogenetico

Gozzo o struma parenchimatoso

Si osserva a seguito di una massiva iperplasia delle cellule follicolari per assenza o per eccesso di iodio nella dieta o per la presenza di sostanze gozzigene, naturali o sintetiche, che determinano un deficit di iodio disponibile per le cellule follicolari, con stimolazione prolungata del TSH.

Le sostanze naturali sono di origine vegetale e la loro assunzione dalla dieta, a basse dosi, ma per periodi prolungati, determinano uno stato di insufficienza funzionale della tiroide. L'ipotiroidismo congenito si evidenzia anch'esso come gozzo parenchimatoso. È più frequente negli erbivori rispetto ai carnivori. Si osserva prolungamento del periodo di gestazione, parti distocici e ritenzione placentare. Se il gozzo è particolarmente voluminoso provoca disturbi respiratori per compressione sulla trachea fino a causare asfissia e morte dell'animale.

Il gozzo è bilaterale e coinvolge entrambi i lobi tiroidei. Istologicamente si rileva iperplasia delle cellule follicolari, maggiore endocitosi della sostanza

colloide e collasso del follicoli tiroidei. La ghiandola è dura e di colore rosso bruno per la fine capillarizzazione conseguente alla stimolazione prolungata da TSH.

Gozzo o struma colloide

È uno stadio involutivo del gozzo parenchimatoso che si caratterizza per la massiva produzione di sostanza colloide da parte delle cellule follicolari, ma l'endocitosi della sostanza colloide è diminuita per un *feed-back* negativo degli ormoni tiroidei sulla produzione di TSH.

Gozzo o struma nodulare

L'iperplasia nodulare della tiroide, descritta nel cavallo anziano, nel gatto e nel cane si presenta con noduli multipli, di varie dimensioni, di colore variabile dal bianco al marrone chiaro, spesso non funzionali.

Nel gatto l'adenoma tiroideo, endocrinologicamente attivo, si sviluppa in un contesto d'iperplasia nodulare. La citomorfologia non consente di differenziare le due popolazioni cellulari. L'adenoma è di solito una formazione singola, mentre l'iperplasia nodulare, come già evidenziato, si manifesta in forma multi nodulare. L'approccio ultrasonografico determina dapprima la presenza di masse uniche o multiple poi guida l'operatore nel sito di prelievo (ago-biopsia).

Il gozzo nodulare è minimamente espansivo all'interno del parenchima tiroideo e si caratterizza per la presenza di follicoli, di dimensioni disomogenee, rivestiti da elementi epiteliali follicolari iperplastici o di follicoli involuti ripieni di sostanza colloide. La coesistenza di detti quadri è espressione di attività della tiroide (iperplasia/involuzione follicolare).

Gozzo disormonogenetico familiare

Il gozzo ereditario è trasmesso da un gene autosomico recessivo che influenza la biosintesi della tireoglobulina per difetto del suo RNA messaggero. Si osserva in alcune razze ovine (Merino, Romney, Corriedale), nei bovini Afrikaner, nella razza nana delle capre Saanen e nella specie suina. Nella pecora lo stato di ipotiroidismo si manifesta con alterazione della crescita del vello, mixedema e debolezza muscolare. Gli agnelli nascono morti o sono suscettibili a infezioni post-natali. Si osserva ipertrofia bilaterale dei lobi tiroidei con quadri microscopici di iperplasia delle cellule follicolari. I follicoli tiroidei talvolta sono privi di colloide e appaiono collassati.

Gozzo o struma nelle specie aviarie

Stati di gozzo spontaneo e di gozzo sperimentale sono descritti nelle specie aviarie (polli e quaglie) a seguito di ingestione di sostanze gozzi gene. Nella cocorita il deficit di iodio nella dieta provoca la comparsa di gozzo. Uccelli con displasia della tiroide presentano sintomi respiratori per compressione del gozzo tiroideo sulla trachea e sul siringe. Alcuni soggetti sviluppano un caratteristico “cigolio” durante gli atti respiratori.

L’ipotiroidismo può causare la perdita simmetrica delle penne sui fianchi e sulla testa, assenza di muta e ipercheratosi. Gli animali appaiono obesi e presentano struma tiroideo.

Processi infiammatori della tiroide

I processi infiammatori sono infrequenti e si osservano prevalentemente nel cane, nel bovino e nel cavallo: sono descritte infiammazioni purulente, interstiziali e granulomatose. Le tiroiditi purulente spesso si caratterizzano nella forma ascessuale in seguito a setticemie o per estensione di processi infiammatori da organi adiacenti (per esempio nell’adenite equina); le infiammazioni granulomatose comprendono le forme tubercolari, l’actinogranulomatosi, mentre nel cane sono descritte tiroiditi piogranulomatose in corso di infezione sistemica da *Nocardia asteroides*.

I processi infiammatori più frequenti sono rappresentati anche negli animali domestici dalle **tiroiditi linfocitarie croniche** autoimmuni; sono descritte principalmente nel cane, nel gatto, nella capra e nei primati.

La patogenesi della **tiroidite linfocitaria** nel cane è riferibile alla produzione di autoanticorpi contro la tireoglobulina, contro la tireoperossidasi (antigene microsomiale) o contro i recettori del TSH.

Nella tiroidite linfocitaria del cane, simile alla tiroidite di Hashimoto dell’uomo, la ghiandola mostra dimensioni variabili, da normale a lievemente ipertrofica e colore marrone-biancastro. Istologicamente si evidenziano infiltrati diffusi di linfociti, plasmacellule e macrofagi che infiltrano e distruggono le strutture follicolari. Le cellule linfo-plasmacellulari infiltranti provocano distacco ed esfoliazione delle cellule follicolari dalla membrana basale, comparsa di elementi linfocitari nel lume del follicolo e successiva distruzione dello stesso. Le cellule epiteliali follicolari ancora funzionanti si ipertrofizzano per azione del TSH.

Nella tiroide di cani con tiroidite linfocitaria cronica si possono rilevare cellule globose, eosinofile definite oncociti o cellule di Hurtle; gli oncociti rappresentano una modificazione metaplastica delle cellule follicolari, con-

tengono grandi quantità di enzimi ossidativi che compromettono la sintesi degli ormoni tiroidei. Dispersi nel parenchima si rilevano ancora infiltrati nodulari di elementi linfocitari con centro germinativo, interposti a nidi di cellule parafollicolari e a piccoli follicoli. Nei follicoli si osservano cellule follicolari degenerate e sostanza colloide debolmente eosinofila. La ghiandola successivamente presenta quadri di atrofia e fibrosi. L'azione lesiva è lenta ma progressiva, da 1 a 3 anni, e i segni clinici di ipotiroidismo si manifestano quando il 75% della ghiandola è distrutta. La forma subclinica può essere diagnosticata mediante la ricerca di autoanticorpi anti-tireoglobulina e anti tiroxina e triiodotironina.

Tumori della ghiandola tiroidea

(WHO-AFIP, Kiupel M. et al. Tumors of the Endocrine System of Domestic Animals, 2nd ed., 2008)

cellule follicolari	adenoma delle cellule follicolari
	adenoma microfollicolare
	adenoma macrofollicolare
	cistadenoma
	adenoma papillare
	adenoma trabecolare/solido
	adenoma ossifilico (cellule di huerthle o oncociti)
	carcinoma delle cellule follicolari
	carcinoma ben differenziato
	carcinoma follicolare
	carcinoma solido (compatto)
	carcinoma follicolare compatto
	carcinoma papillare
	carcinoma scarsamente differenziato
	carcinoma indifferenziato
	carcinoma a cellule fusate
	carcinoma a piccole cellule
	carcinoma gigantocellulare
	carcinosarcoma

lesioni pseudotumorali delle cellule follicolari	iperplasia nodulare o multinodulare (gozzo) iperplasia follicolare diffusa (gozzo) cellule follicolari ectopiche (accessorie)
residui del dotto tireoglossa	adenoma dei residui del dotto tireoglossa carcinoma dei residui del dotto tireoglossa
cellule C (parafollicolari)	adenoma delle cellule C carcinoma delle cellule C iperplasia delle cellule C cellule C ectopiche

I tumori tiroidei sono per la maggior parte primitivi ed epiteliali; si differenziano in forme benigne (adenomi) e maligne (carcinomi); sono frequenti soprattutto nelle specie canina, felina ed equina e raramente si osservano in altre specie.

Nel cane sono maggiormente frequenti i carcinomi, mentre nel gatto prevalgono le neoplasie benigne. Studi epidemiologici hanno evidenziato che l'età media di comparsa dell'adenoma nel cane è riferibile ai 10,7 anni, mentre nel gatto si osserva in età più avanzata (12,4 anni). Il carcinoma compare mediamente nel cane all'età di 9 anni e di 15,8 anni nel gatto.

Le razze canine a maggior rischio sono i Boxers, i Golden retrievers e i Beagles, mentre non si registra rischio di genere. I tumori clinicamente silenti, benigni o maligni, un tempo erano diagnosticati incidentalmente mentre ora, con l'uso dell'ecografia, si è registrato un aumento delle loro diagnosi.

Adenomi

Sono tumori solidi, relativamente di piccole dimensioni, di colore bianco-marrone, talvolta con cisti ripiene di liquido di colore variabile dal giallo al rosso.

Le forme solide sono separate dal parenchima tiroideo da tralci di tessuto connettivo denso, mentre le forme cistiche, espansive, possono comprimere il parenchima ghiandolare fino alla completa atrofia. L'analisi istologica consente di classificare **l'adenoma in follicolare o papillare**.

Nella **forma follicolare**, la più frequente nella specie felina, le cellule epiteliali sono arrangiate a formare strutture follicolari irregolari. Si rinvengono aree di parenchima in necrosi, mineralizzate e in preda a degenerazione cistica. Le

cellule neoplastiche non presentano invasività nè capacità metastatiche. Nelle **forme papillari**, rare negli animali domestici, le cellule epiteliali, cilindriche o cubiche, sono disposte in monostrato lungo una struttura fibro-vascolare, proiettata nel lume della cisti. Altre forme conosciute sono l'adenoma trabecolare e l'adenoma ossifilo o oncocitoma tiroideo. Nell'adenoma ossifilo si evidenziano cellule follicolari con fenomeni di metaplasia, definite oncociti o cellule di Hürtle, che rivestono follicoli contenenti scarsa sostanza colloide e mostrano alterazioni metaboliche per l'eccessiva presenza di mitocondri.

Carcinomi

Le forme tumorali maligne sono frequenti nella specie canina e si presentano come masse monolaterali o bilaterali, palpabili nella regione cervicale ventrale del collo. Nelle forme bilaterali le masse possono raggiungere anche notevoli dimensioni e causare disturbi respiratori per compressione sulla trachea. Sono tumori debolmente secernenti e talvolta inducono uno stato di ipertiroidismo.

La caratterizzazione istologica consente la classificazione in diversi istotipi: **adenocarcinoma** (follicolare, cellulare compatto, follicolare-compatto, papillare), **carcinoma tiroideo indifferenziato**, **tumore tiroideo misto maligno**. Il carcinoma follicolare compatto è il più frequente nella specie canina. Il carcinoma tiroideo indifferenziato è suddivisibile in due sottotipi in base alle dimensioni delle cellule epiteliali che lo costituiscono: a piccole cellule o a grandi cellule.

I carcinomi tiroidei metastatizzano principalmente al polmone.

Tumori del dotto tireoglosso

Sono tumori descritti nel cane e originano da cisti vestigiali del dotto tireoglosso. Si presentano come masse mobili, ben delimitate nella regione cervicale ventrale. L'istotipo è riferibile a un carcinoma papillare ben differenziato.

Tumori delle cellule parafollicolari (cellule C)

I tumori dalle cellule C (parafollicolari o cellule ultimobranchiali) sono più comuni nei tori e nei cavalli adulti. Un'alta percentuale di tori anziani sviluppa tumori delle cellule C (= 30%) o iperplasia delle cellule C (= 15-20%). Nei tori anziani i tumori delle cellule C sono spesso associati ad altre neoplasie endocrine (feocromocitomi bilaterali e adenomi ipofisari) e rientrano in un quadro di sindromi ereditarie caratterizzate dalla crescita di tumori benigni e maligni in diversi organi endocrini (neoplasie endocrine multiple, MEN). In

una famiglia di tori di razza Guersney è stata osservata un'alta frequenza di tumori delle cellule C della tiroide e di feocromocitomi, il che suggerisce una trasmissione genetica autosomica dominante.

Gli **adenomi delle cellule C** sono di dimensioni inferiori (1-3 cm di diametro) rispetto ai carcinomi e sono separati dal parenchima tiroideo da una sottile capsula di tessuto connettivo fibroso. La tiroide adiacente è compressa ma non invasa dalla neoplasia. Nei cavalli l'adenoma delle cellule parafollicolari può rendersi morfologicamente apprezzabile nella regione cervicale ventrale. Microscopicamente la neoplasia si presenta come un ammasso di elementi parafollicolari ben differenziati caratterizzati da abbondante citoplasma debolmente eosinofilo.

I **carcinomi delle cellule C** si presentano in forma multinodulare, hanno dimensioni maggiori rispetto agli adenomi e possono coinvolgere uno o entrambi i lobi ghiandolari.

Metastatizzano nei linfonodi cervicali (*Lymphocentrum cervicale superficiale et profundum*) e raramente nel polmone.

Nel toro la dieta contenente alte concentrazioni di calcio è direttamente correlata all'aumento dell'incidenza del tumore, infatti diete normocalciche riducono la comparsa della neoplasia. Nelle vacche da latte il metabolismo del calcio è fisiologicamente diverso rispetto al maschio e anche se alimentate con diete contenenti elevate dosi di calcio, non sviluppano lesioni proliferative neoplastiche delle cellule C.

Nei carcinomi le cellule C neoplastiche si presentano pleomorfe, poligonali a volte con metaplasia squamosa o con citoplasma finemente granulare e macro nucleoli.

Frequente è il riscontro di un quadro infiltrativo fino a superare la capsula della ghiandola e metastatizzare a distanza.

Nei tumori delle cellule C è possibile osservare depositi di sostanza amiloide prodotta dalle cellule neoplastiche. Nel toro la maggior complessità istologica della neoplasia ricorda il carcinoma midollare dell'uomo.

GHIANDOLE PARATIROIDI (*GLANDULA PARATHYROIDEA INTERNA, GLANDULA PARATHYROIDEA EXTERNA*)

Sede, ontogenesi, struttura e funzione

Negli animali domestici sono in numero di 4, 2 interne e 2 esterne, eccetto nella specie suina (2 paratiroidi). Nella filogenesi le ghiandole paratiroidi compaiono negli animali che hanno esigenze deambulatorie nel mondo terrestre: sono presenti negli anfibi e assenti nei pesci. Le paratiroidi originano

dalla III tasca branchiale (paratiroidi esterne o superiori) e dalla IV (paratiroidi interne o inferiori).

Negli animali dotati di scheletro calcificato l'omeostasi del calcio è regolata dalla compartecipazione di 2 ormoni e di una vitamina (paratormone, calcitonina e vit. D3) che interagiscono per mantenere costante la calcemia, in un contesto fisiologico variabile dovuto all'assunzione ed escrezione dello ione calcio. Altri ormoni, come i corticosteroidi, gli estrogeni, la tiroxina, la somatotropina e il glucagone, concorrono al mantenimento dell'omeostasi del calcio.

La concentrazione di calcio nel sangue dei mammiferi è ~ 10 mg/dL, con qualche variazione di specie (fino a 13 mg/dL è normale negli equidi e nei lagomorfi), di età e in rapporto alla dieta.

Lo ione calcio è una componente strutturale essenziale dello scheletro. Svolge anche un ruolo fondamentale nella contrazione muscolare, nella coagulazione del sangue, nell'attività enzimatica, nell'eccitabilità del neurone, nel rilascio di ormoni e nella permeabilità della membrana cellulare.

Le paratiroidi sono popolate essenzialmente dalle **cellule principali** che secernono il Paratormone (PTH) e la Cromogranina A (CGA). Il secondo citotipo è rappresentato dalle **cellule ossifile** assenti nelle specie aviarie. Un terzo citotipo, in minor numero, sono le **cellule ossifile di transizione** che presentano caratteristiche morfologiche intermedie tra le cellule principali e le ossifile.

Le cellule ossifile non hanno funzioni biosintetiche del PTH, mentre hanno un quantitativo di ossidasi e idrolasi maggiore rispetto alle cellule principali. La funzione biologica della CGA non è ancora chiarita ma sembra che la sua presenza giochi un ruolo importante nella maturazione dei granuli secretori. Molecole simili sono state riconosciute nei granuli secretori di cellule secernenti ormoni polipeptici (Cellule C della tiroide, cellule pancreatiche, cellule della midollare surrenalica, cellule SNED GEP) e nelle vescicole contenenti neurotrasmettitori dei nervi simpatici.

Ormone paratiroideo (PTH)

Il PTH è sintetizzato e immagazzinato nelle cellule principali delle ghiandole paratiroidi. La sua biosintesi è regolata da un meccanismo di *feed-back* legato alla calcemia e in minor misura alla magnesemia. Le ammine biologiche, i peptidi, gli steroidi e diverse classi di farmaci possono influenzare la secrezione del PTH.

La funzione principale del PTH è di controllare la concentrazione di calcio nel liquido extracellulare. L'omeostasi è mantenuta regolando la velocità di trasferimento del calcio dentro e fuori dal tessuto osseo, le velocità di riassor-

bimento del calcio a livello renale e del suo assorbimento a livello intestinale. L'effetto del PTH sul tubulo renale è più rapido e parallelamente all'assorbimento del calcio, si assiste all'escrezione del fosforo.

Il PTH mobilita il calcio dall'osso al liquido extracellulare, mentre l'assorbimento enterico del calcio non è direttamente PTH dipendente; il PTH infatti favorisce la sintesi del metabolita attivo della Vit. D (calcitriolo) che a sua volta regola l'assorbimento intestinale del calcio.

Patologie delle ghiandole paratiroidi

Alterazioni ontogenetiche

L'**aplasia** delle ghiandole paratiroidi è incompatibile con la vita, mentre la loro **diminuzione numerica** porta a uno stato iperplastico funzionale compensatorio delle paratiroidi rimanenti.

Paratiroidi soprannumerarie si possono reperire lungo il decorso del dotto tireoglosso

A livello delle ghiandole paratiroidi **le cisti** rappresentano un'alterazione relativamente frequente; sono descritte nel cane e meno nelle altre specie e definite anche cisti di Körtsteiner, strutture di piccole dimensioni, multicamerale, tappezzate da epitelio cilindrico disposto in monostato e contenenti materiale proteinaceo.

Alterazioni regressive

L'**atrofia** delle ghiandole paratiroidi può essere legata alla senescenza, a fatti compressivi conseguenza di neoplasie tiroidee, oppure su base metabolica per uno stato alterativo, prolungato, del metabolismo del calcio (ipercalcemia).

Negli erbivori l'ingestione di vegetali (*Cestrum diurnum* o *Solanum malaxylon*) contenenti molecole attive ipercalcemizzanti (calcitriolo) provocano stati ipercalcemici e successivi fenomeni di calcificazione metastatica endocardica e dei vasi arteriosi, osteosclerosi, atrofia delle paratiroidi e iperplasia delle cellule parafollicolari tiroidee.

Nelle paratiroidi dei cani si possono evidenziare **cellule giganti sinciziali**, la cui genesi è incerta, ma che non interferiscono con il funzionamento delle ghiandole.

Alterazioni di circolo

In corso di alterazioni emodinamiche della tiroide anche le paratiroidi sono coinvolte: nel cane sono descritti quadri emorragici in corso di leptospirosi e di avvelenamento da stricnina.

Processi infiammatori delle paratiroidi

Le infiammazioni sono secondarie soprattutto a processi purulenti setticemici o a carico della tiroide. Nelle paratiroidi sono descritte infiammazioni primitive (paratiroiditi linfocitarie) collegate a stati di ipofunzionalità delle ghiandole (ipoparatiroidismo idiopatico). In corso di cimurro si possono evidenziare corpi inclusi nelle cellule principali.

Iperplasia

L'iperplasia delle cellule principali delle paratiroidi si presenta in forma nodulare (focale o multifocale) o diffusa e può essere primaria o secondaria.

Nella **forma nodulare** le cellule appaiono con un rapporto nucleo:citoplasma maggiore rispetto alle cellule principali normali e con nucleo ipercromatico. Non sono lesioni demarcate da vallo connettivale e, usando solo questi criteri morfologici non è possibile differenziare un'iperplasia focale da un adenoma delle cellule principali delle ghiandole paratiroidi. La comparsa di noduli multifocali, è più compatibile con uno stato d'iperplasia piuttosto che di proliferazione neoplastica.

Le **forme iperplastiche diffuse** delle cellule principali, secondarie a stati d'insufficienza renale cronica o a diete squilibrate nel rapporto calcio/fosforo, si manifestano con ipertrofia delle ghiandole paratiroidi. Le cellule principali sono di solito raggruppate e delimitate da esili tralci fibroconnettivali, il loro citoplasma appare lievemente eosinofilo e contenente vacuoli.

L'**iperplasia primaria** delle cellule principali è stata osservata in cuccioli di Pastore tedesco ed è trasmessa come carattere autosomico recessivo. La lesione principale è evidenziabile come iperplasia delle cellule principali delle ghiandole paratiroidi ma anche delle cellule C della tiroide. I quadri lesivi extraghiandolari sono riferibili a calcificazione metastatica del polmone, del rene e della mucosa gastrica.

L'**iperplasia secondaria** è diagnostica nelle forme d'insufficienza renale cronica e negli squilibri nutrizionali del rapporto calcio:fosforo. Queste condizioni patologiche, non frutto di disendocrinopatie primarie, inducono a stati di iperplasia/iperfunzione delle cellule principali delle paratiroidi (iperparatiroidismo).

Nell'**insufficienza renale** cronica l'iperparatiroidismo è una condizione patologica secondaria caratterizzata da eccessiva produzione di PTH a seguito di un'ipocalcemia persistente. Il danno renale induce una minor sintesi di Vit. D3, con conseguente minor assunzione di calcio a livello intestinale da cui s'instaura, una risposta iperplastica delle cellule principali delle paratiroidi.

Lo **squilibrio nutrizionale del rapporto calcio:fosforo** negli erbivori è causato da diete contenenti molecole che catturano il calcio (ossalati) o da diete con eccesso di fosforo in un contesto di presenza dello ione calcio in concentrazione normale o scarsa. Nei carnivori questa condizione si osserva in soggetti alimentati con una dieta carnea monotematica, ma soprattutto quando nella dieta prevale il fegato (organo d'accumulo della Vit. D) o il cuore bovino (organo ad alto contenuto di fosforo).

Turbative del metabolismo del calcio (ipocalcemia) inducono una reazione d'iperplasia delle cellule principali.

Le cellule principali iperplastiche si presentano con un citoplasma più abbondante, debolmente eosinofilo e vacuolizzato. **La carenza di Vit. D3** provoca uno stato iperplastico reattivo delle cellule principali, con quadri citologici analoghi a quelli descritti, ma la condizione di ipovitaminosi si manifesta clinicamente anche con la comparsa di rachitismo e di iperparatiroidismo secondario.

Condizioni di **eccesso di Vit. D** o di **ingestione di vegetali** contenenti molecole biologicamente assimilabili alla funzione della Vit. D, oppure **ingestione** accidentale di **rodenticidi (contenenti colecalciferolo)**, provocano ipercalcemia e mineralizzazione diffusa dei tessuti molli.

Altre condizioni di ipercalcemia possono essere di natura **iatrogena** per la somministrazione di molecole analoghe alla Vit. D.

Le forme da intossicazione per ingestione di vegetali sono conosciute in più aree del pianeta; in Europa sono causate da *Trisetum flavescens* (Alpi bavaresi e austriache), negli Stati Uniti (Florida) da *Cestrum diurnum*, in Brasile e in Argentina da ingestione di *Solanum malacoxylon* responsabile nelle vacche dello "enteque seco". Altri vegetali contengono molecole analoghe alla Vit. D tra cui *Medicago sativa* (erba medica).

Ipoparatiroidismo

L'ipofunzionalità paratiroidea primitiva è rara nel cane e nel gatto e si caratterizza con sintomi di tetania e convulsioni; riconosce cause infiammatorie (paratiroidite linfocitaria idiopatica) o stati ipofunzionali post-chirurgici per ablazione delle ghiandole. Le condizioni patologiche diagnosticate nell'uomo (Sindrome di Di George, pseudoipoparatiroidismo), non sono ancora state segnalate nei carnivori domestici e tantomeno in altre specie animali.

Condizioni di pseudoipoparatiroidismo si rinvencono in numerose condizioni patologiche (insufficienza renale acuta e cronica, ipoalbuminemia, pancreatite acuta, eclampsia puerperale/collasso puerperale, sindrome da malassor-

bimento intestinale, nutrizionale secondaria a iperparatiroidismo, terapie con anticonvulsivi, intossicazione da glicole etilenico, clisteri contenenti fosfati, ipomagnesiemia, terapia con bicarbonati, terapia infusiva con soluzioni di fosfati, emotrasfusioni (sangue citrato), traumi ai tessuti molli, carcinoma midollare della tiroide, tumori primitivi e metastatici delle ossa, chemioterapia).

Iperparatiroidismo primitivo (o primario)

È una condizione frequente nel cane vecchio, meno descritta nel gatto. Nel cane solo la razza Keeshound ha mostrato una predisposizione genetica all'iperparatiroidismo, mentre nel gatto non sono stati compiuti studi epidemiologici con risultanze statisticamente significative sull'influenza della razza. In due cani di razza Pastore tedesco è stato ipotizzato un iperparatiroidismo su base genetica tramite un gene autosomico recessivo.

L'iperparatiroidismo nei carnivori domestici è essenzialmente legato alle patologie neoplastiche, endocrinologicamente attive, benigne e maligne, o a stati iperplastici funzionali delle ghiandole paratiroidi.

I segni clinici dell'iperparatiroidismo sono caratterizzati da ipercalcemia persistente, spesso associata a debolezza dell'osso (riassorbimento del calcio), poliuria, polidipsia, ipercalciuria, urolitiasi, infezioni del tratto urinario, inappetenza, debolezza muscolare, calcificazione metastatica dei tessuti molli.

Ipercalcemia associata a tumori maligni non paratiroidi

L'ipercalcemia correlata alle malattie tumorali è una condizione patologica ben conosciuta negli animali, soprattutto nel cane e nel gatto

Sono stati definiti diversi meccanismi eziopatogenetici:

- ***Ipercalcemia umorale maligna (HMM)***, o pseudoiperparatiroidismo in cui le cellule tumorali maligne producono un peptide correlato al PTH (Parathyroid Hormone related Protein o PTHrP): i tumori che producono questo peptide sono l'adenocarcinoma delle ghiandole apocrine del sacco anale, il tumore delle cellule interstiziali del testicolo, il carcinoma squamocellulare, il carcinoma tiroideo, il carcinoma polmonare, l'adenocarcinoma pancreatico, il fibrosarcoma. Nell'adenocarcinoma delle ghiandole apocrine del sacco anale la produzione del PTHrP è ben documentata, Il ***PTHrP stimola il riassorbimento del calcio sia a livello osseo*** (osteoclasia) sia a livello renale e intestinale.

- ***Ipercalcemia nei tumori primitivi o metastatici del tessuto osseo***, non comune negli animali domestici, è correlata all'osteolisi (ipercalcemia da osteolisi). Gli osteosarcomi sono osteolitici ma non determinano ipercalcemia ma-

ligna, mentre il mieloma multiplo talvolta è associato a ipercalcemia maligna. L'effetto locale dell'osteolisi è mediato anche dall'azione di citochine (IL-1, IL-6, TNF α , TNF- β) e dal PTHrP.

- **Ipercalcemia nei tumori emolinfoproliferativi** ben conosciuto è il binomio linfoma/ipercalcemia maligna per capacità delle cellule tumorali a produrre contemporaneamente PTHrP e Vit. D. Nel **cane l'ipercalcemia si** evidenzia nei linfomi T ma non nei linfomi B, in cui gli animali affetti dalla neoplasia si presentano normocalcemic.

Tumori delle paratiroidi

(WHO-AFIP, Kiupel M. et al. Tumors of the Endocrine System of Domestic Animals, 2nd ed., 2008)

cellule paratiroidee principali

adenoma delle cellule principali

carcinoma delle cellule principali

lesioni pseudotumorali delle ghiandole paratiroidi

iperplasia primaria delle cellule principali

iperplasia diffusa delle cellule principali

cisti paratiroidee

Sono descritti nella specie canina e felina tumori epiteliali primitivi benigni e maligni che possono presentarsi come masse neoplastiche solitarie nelle ghiandole paratiroidi o nel tessuto paratiroideo ectopico localizzato nel mediastino. Quando coesistono più noduli paratiroidei nella stessa ghiandola la diagnosi istopatologica può evidenziare stati proliferativi diversi (adenoma/carcinoma/iperplasia). Le recidive sono più frequenti (>50%) negli animali che presentano alla prima diagnosi forme nodulari multiple, rispetto a quelli con forme solitarie.

Adenoma paratiroideo delle cellule principali

L'adenoma nel cane è diagnosticato facilmente *intra-vitam* quando raggiunge le dimensioni di 5 mm di diametro. Sono formazioni solitarie (85% dei casi), a sviluppo lento, ben demarcate e compressive. Sono popolate da aggregati di cellule principali, cubiche o poligonali, separati dalla ghiandola tiroide da un vallo, completo o incompleto, di tessuto connettivo fibroso.

Le cellule principali sono funzionalmente attive nella biosintesi e nella secrezione del PTH.

Carcinoma paratiroideo delle cellule principali

La comparsa di una neoplasia maligna, sia nel cane sia nel gatto, è rara. Si presenta di solito, come una massa unica di dimensioni maggiori rispetto all'adenoma. Le cellule principali presentano caratteri di malignità che conferiscono loro invasività locale alla ghiandola tiroide e ai muscoli della regione cervicale ventrale o metastatica (linfonodi regionali e polmone).

Il carcinoma solitario difficilmente presenta carattere infiltrativo o metastatizzante a differenza delle forme multiple.

TIMO (*THYMUS*)

Il timo origina dalla parte ventrale della terza tasca faringea, struttura cellulare pari a forma di diverticolo, che accrescendosi caudalmente si incontra e si fonde per costituire l'organo. Il timo è organizzato in lobi e si estende dalla regione cervicale fino a quella del mediastino (*lobus cervicalis, lobus intermedio, lobus thoracicus*). L'organo involge con la pubertà e la prima porzione a regredire è quella cervicale. I lobi sono organizzati in lobuli (*lobuli thymi*) in cui si riconosce una corteccia (*cortex*) e una midollare (*medulla*).

Appare rivestito da una capsula fibrosa e dall'esterno verso l'interno si riconosce la zona corticale e la zona midollare: la zona corticale si compone di elementi epiteliali timici (TEC), di forma stellata, che concorrono alla maturazione dei linfociti T e da linfociti (fig.n)

La zona midollare è popolata, soprattutto, di elementi epiteliali e meno di linfociti T. Nella zona midollare si riconoscono formazioni concentriche denominate corpuscoli di Hassal, descritti nel 1849 da Arthur H. Hassal. Hanno diametro variabile tra i 30-100 μm e sono costituiti da un miscuglio di residui di corpuscoli citoplasmatici, di lamelle di cheratina e di nuclei picnotici. Nella midollare sono presenti cellule epiteliali interdigitanti con funzione di selezione e induzione all'apoptosi di linfociti T che esprimono auto antigeni, macrofagi e fibroblasti. Nella zona midollare si riconosce pure un'esigua popolazione di cellule immunopositive per actina e miosina (cellule midodi). La loro funzione è ancora da definire ma la presenza di actina e miosina non esclude una loro attività miocontrattile.

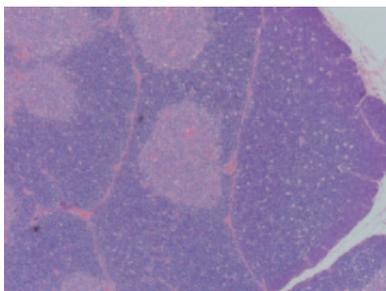


Fig n 1- sezione istologica di timo, e-e, 10x.

Il **timo** è una ghiandola endocrina poiché è in grado di secernere alcuni ormoni (timosina, timopoiatina, timostimulina, fattore umorale timico e timulina); fra questi il più conosciuto e studiato è la **timulina** (FTS). Questo ormone è stato isolato dal siero di varie specie animali (topo, ratto, suino, pollo e uomo); nella specie suina la sua sequenza aminoacidica è stata descritta già da tempo e studi hanno dimostrato che tale sequenza è del tutto identica a quella dell'analogo ormone umano. La timulina viene prodotta esclusivamente dalle cellule epiteliali della corticale timica e la sua attività biologica dipende fortemente dalla presenza dello zinco all'interno della sua molecola a cui si lega attraverso tre principali siti di legame. Nella sua forma attiva, Zn-legata, la timulina induce la differenziazione antigenica dei linfociti T e ne esalta la funzionalità sia in soggetti normali che in soggetti con deficienza timica parziale. Inoltre, ad elevate dosi interviene sui linfociti T-soppressori, mentre a basse dosi sembra stimolare specificatamente l'attività dei linfociti T-helper e T-citotossici. Il livello sierico della timulina decresce progressivamente con l'aumentare dell'età dell'animale e con l'involutione del timo ed è strettamente dipendente dalla biodisponibilità di Zn. In corso di deficienza di Zn si verifica atrofia timica, con riduzione dell'area corticale, diminuita attività timica endocrina, ed alterazione delle funzioni immunitarie periferiche T-dipendenti; inoltre la carenza di Zn causa ridotta sintesi e rilascio di GH, ormone della crescita, che, insieme alla prolattina, svolge un ruolo fondamentale nella maturazione delle funzioni immunitarie ed endocrine (secrezione di timulina) del timo (azione diretta mediata da recettori ormonali sui timociti e sulle cellule epiteliali, azione indiretta mediata dall'IGF-1 o correlata alla biodisponibilità di Zn).

L'assenza congenita del timo è associata ad alterazioni dell'ipofisi, delle ghiandole surrenali, della tiroide e delle ovaie. Molecole ad attività antitiroidea possono causare una marcata atrofia timica.

PANCREAS ENDOCRINO (*INSULAE PANCREATICAE*)

Sede, ontogenesi, struttura e funzione

Il pancreas endocrino è costituito da piccoli gruppi o nidi di cellule (isole pancreatiche o di Langerhans) separate dal restante parenchima da un sottile involucro connettivale, immerse e circondante dagli acini e dai dotti del pancreas esocrino. Nelle **isole pancreatiche** sono presenti quattro tipi cellulari con caratteristiche morfologiche e immunoistochimiche diverse: cellule α (alfa), cellule β (beta), cellule δ (delta), cellule PP (F): le **cellule α** (alfa) secernono **glucagone**, ormone catabolico iperglicemizzante; le **cellule β** (beta) sono predominanti e secernono **l'insulina**, ormone anabolico ipoglicemizzante e un antagonista dell'insulina denominato **polipeptide amiloide insulare (IAPP) o amilina**; le **cellule PP (F)** numerose nella pecora, secernono un **polipeptide pancreatico (PP)** con funzione ancora poco conosciuta ma sicuramente coinvolto nei meccanismi gastro-intestinali relativi alla motilità e all'assorbimento. Le **cellule δ** (delta) secernono **somatostatina**, ormone ad attività inibitoria sul glucagone e sull'insulina e agiscono in modo paracrino. La somatostatina sembra modulare le funzioni degli altri tre citotipi presenti nelle isole pancreatiche. Le cellule α , β e PP agiscono con meccanismo endocrino classico riversando nel torrente circolatorio i propri ormoni.

PANCREAS ENDOCRINO ISOLE PANCRERATICHE

-  CELLULE ALFA 15-20% (glucagone)
-  CELLULE BETA 65-80% (insulina e amilina)
-  CELLULE DELTA 1-3% (somatostatina)
-  CELLULE EPSILON 1% (grelina)
-  CELLULE PP 1-2% (peptide pancreatico)

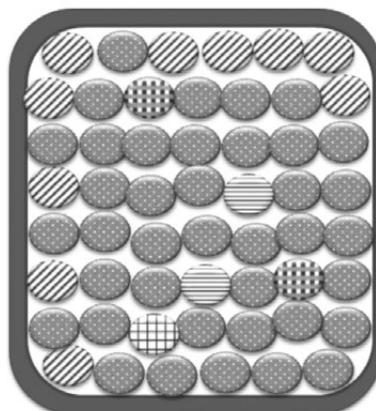


Tabella n.4: citomorfologia funzionale dell'isola pancreatica

CITOTIPO	CITOARCHITETTURA NELL'ISOLA	ORMONE SECRETO	FUNZIONE
Alfa 15-20%	periferia	glucagone	stimolo alla glucogenolisi e alla gluconeogenesi (iperglicemizzante)
Beta 65-80%	centro	insulina	controllo della glicemia tramite aumento del trasporto transmembrana di glucosio (ipoglicemizzante)
		amilina	ormonale- controllo endogeno ed esogeno del carico dei nutrienti inibitoria- inibisce la secrezione di glucagone regolatoria- processo di assorbimento dei carboidrati
Delta 3-10%	centro	somatostatina	feed-back negativo sul rilascio di insulina, glucagone, gastrina e secretina
Epsilon 1%		grelina	appetitivo (induce sazietà)
PP 3-5%	periferia	polipeptide pancreatico	stimolo alla secrezione di enzimi gastrici e intestinali motilità e assorbimento intestinale

Alterazioni ontogenetiche

L'aplasia e l'ipoplasia delle isole pancreatiche sono descritte nel cane come causa di diabete mellito di tipo 1 che si presenta nei primi mesi di vita; l'ipoplasia delle cellule beta si evidenzia soprattutto in razze canine in purezza (Keeshonds, Chow Chow, Golden Retrievers) ed è un disordine ereditario autosomico recessivo.

Lesioni degenerative

L'**atrofia** delle isole pancreatiche si rileva come esito di processi infiammatori interstiziali cronici o nell'amiloidosi delle isole. La **degenerazione vacuolare** delle cellule β e α è causata dall'accumulo di glicogeno ed è una lesione comune nel diabete mellito.

La **necrosi insulare** in seguito a necrosi pancreatica acuta comporta diabete

mellito nel cane e può riconoscere tra le cause infezioni virali.

L'**amiloidosi delle isole pancreatiche** è una lesione caratteristica del diabete mellito di tipo 2 e si osserva in circa l'80% dei gatti diabetici, nell'uomo e nei primati; nel cane diabetico l'amiloidosi insulare non è stata evidenziata, mentre si osserva in corso di patologie neoplastiche del pancreas endocrino. L'amiloidosi insulare è una forma primaria di amiloidosi e la sostanza amiloide è costituita dal **polipeptide amiloide insulare (IAPP) o amilina**, iperprodotto dalle cellule β in seguito a meccanismi eziopatogenetici diversi (obesità, in risposta all'iperglicemia, ipertrigliceridemia, ipercortisolemia, ecc). Nel gatto il deposito di amiloide si osserva nelle zone periferiche delle isole, in vicinanza delle cellule β .

Nesidioblastosi e iperplasia dei dotti pancreatici

Il termine nesidioblastosi indica uno stato di proliferazione diffusa o disseminata delle cellule insulari β (beta), successivamente il termine è stato usato per indicare una condizione patologica del bambino neonato in cui le lesioni del pancreas endocrino si manifestano clinicamente con uno stato di ipoglicemia iperinsulinemica.

In medicina veterinaria la nesidioblastosi è stata descritta in cavalli anziani e in un cane di razza Beagle di 20 mesi d'età. Nella specie equina le lesioni si presentano come noduli miliari multipli di colore bianco. Dal punto di vista istologico si osserva neogenesi delle cellule endocrine, iperplasia degli isolotti neoformati strettamente associati ai dotti pancreatici; si rileva inoltre fibrosi del pancreas a cui consegue una compressione sul sistema duttale con ostacolo al deflusso delle secrezioni del pancreas esocrino. Sono presenti anche fenomeni di necrosi e atrofia delle strutture acinari parenchimali. I noduli neoformati, non-neoplastici, sono essenzialmente espressione della proliferazione di strutture duttali e della proliferazione delle cellule endocrine.

Diabete Mellito

Il Diabete mellito è una patologia causata da una carenza relativa o assoluta di insulina ed è definito come uno "stato di iperglicemia cronica causata da fattori genetici ed esogeni"; si presenta con una certa frequenza nel cane e nel gatto, ma è descritto anche nel bovino, nei piccoli ruminanti, nel suino e nel cavallo.

Al momento attuale non esiste una classificazione del diabete mellito negli animali domestici, ma i criteri classificativi utilizzati in campo umano sono

stati adattati, per differenziare le diverse forme di diabete osservate nel cane, nel gatto e nel bovino:

-Diabete mellito di tipo 1 o insulino-dipendente, caratterizzato da una progressiva distruzione e perdita delle cellule beta,

-Diabete mellito di tipo 2, o insulino-indipendente, caratterizzato da fenomeni di insulino-resistenza o da un'insufficienza funzionale e relativa delle cellule β del pancreas,

-Diabete diestrato nella cagna per eccesso di progesterone, o per somministrazione di megestrolo acetato nella gatta;

-altri tipi specifici di Diabete, includono i casi di diabete mellito che derivano da resistenza cronica o antagonismo all'insulina o secondari a patologie infiammatorie croniche, necrotizzanti o tumorali del pancreas.

Il **Diabete mellito nel cane** mostra strette analogie con il diabete di tipo 1 dell'uomo e al momento della diagnosi gli animali affetti mostrano un deficit assoluto di insulina, perdita delle cellule β e necessitano di terapia insulinica; la patogenesi è ancora incerta, spesso la perdita delle cellule β è riferibile a necrosi del pancreas esocrino o a processi tumorali infiltranti. L'aplasia e l'ipoplasia delle isole pancreatiche su base ereditaria o la perdita di cellule β per meccanismi immunomediati (insulite autoimmune) sembrano avere un'incidenza minore nel determinismo del diabete nel cane.

Il **Diabete mellito nel gatto** per gli aspetti clinici e patogenetici è simile al diabete di tipo 2 dell'uomo con un graduale declino della funzionalità e del numero di cellule β . Si presenta come una patologia multifattoriale (obesità, dieta commerciale ricca in carboidrati, ridotta attività fisica, stati disendocrini quali l'acromegalia, l'ipercortisolismo, l'ipertiroidismo, terapie con glicocorticoidi). Sono maggiormente colpiti i gatti maschi anziani e castrati, senza manifestare una predisposizione di razza.

In corso di Diabete mellito cronico nel cane e nel gatto si osservano sintomi clinici e lesioni caratteristiche quali polifagia, polidipsia, poliuria, perdita di peso, debolezza, lesioni oculari (cataratta, uveite, retinopatie), neuropatie periferiche più comuni nel gatto, nefropatie più comuni nel gatto rispetto al cane.

Le lesioni nel diabete mellito del cane e del gatto sono comparabili. I quadri anatomopatologici postmortali evidenziano disidratazione della carcassa e fenomeni di lipidosi epatica diffusa; il pancreas macroscopicamente può apparire normale o mostrare lesioni necrotizzanti, fibrotiche o neoplastiche. Istologicamente a livello pancreatico si osserva diminuzione di numero e di dimensioni delle isole pancreatiche e oltre ai fenomeni degenerativi già trat-

tati si evidenzia anche vacuolizzazione delle cellule β e delle cellule epiteliali dei piccoli dotti del pancreas esocrino per accumulo intracellulare di glicogeno. Nel cane oltre alla steatosi si osservano fenomeni di degenerazione idropica per accumulo di glicogeno a livello epatico e a livello degli epiteli tubulari renali.

Nel bovino forme di Diabete mellito di tipo 1 sono state osservate in corso di infezioni da virus dell'afta epizootica e della diarrea virale bovina (BVD). Le particelle virali si localizzano nelle cellule β delle isole pancreatiche dove replicano per via citopatica (insulite linfocitaria).

Tumori delle isole pancreatiche

(WHO-AFIP, Kiupel M. et al. Tumors of the Endocrine System of Domestic Animals, 2nd ed., 2008)

adenoma delle isole pancreatiche

carcinoma delle isole pancreatiche

lesioni pseudotumorali

iperplasia delle isole pancreatiche

nesidioblastosi

Insulinoma

L'insulinoma è descritto nel cane, nel gatto, nel bovino e nel furetto.

Nel cane è il tumore più frequente delle isole pancreatiche. Colpisce le cellule Beta (β) e la forma maligna prevale sull'adenoma. Il segno clinico distintivo dell'insulinoma è l'aumento della concentrazione ematica di insulina (iperinsulinemia) con grave ipoglicemia.

Sono tumori tendenzialmente solitari e compaiono più frequentemente a livello del lobo destro del pancreas: molti insulinomi mostrano dimensioni inferiori ad 1 cm di diametro.

Il 45%-64% degli insulinomi metastatizza ai linfonodi regionali e/o agli organi splancnici addominali, al cuore e al midollo spinale. L'eziologia è sconosciuta, ma le cellule presenti nella neoplasia primitiva e nelle metastasi sono GH immunopositive. Nel gatto l'insulinoma è stato segnalato in 5 animali anziani (12-17 anni) con quadri anatomopatologici sovrapponibili a quelli descritti nel cane.

Glucagonoma

È un raro tumore del cane che colpisce le cellule Alfa (α) delle isole pancreatiche con iperproduzione di glucagone: non è mai stato segnalato nel gatto. Nel cane si caratterizza clinicamente con quadri di diabete mellito non chetoacidotico, diffusa epatosi, ipoaminoacidoemia e una dermatite superficiale necrotizzante (*necrolytic migratory erythema*) che interessa i cuscinetti plantari, naso e giunzioni muco-cutanee.

Sono tumori solitari con alta frequenza di metastasi. Sono immunopositivi al glucagone, ma possono presentare positività anche per uno o più dei seguenti ormoni: insulina, somatostatina “gastrin islet amyloid polypeptide” e sinaptosina. L’immunopositività del tumore primitivo, può essere confermato o meno nelle sue metastasi.

Poliipeptidoma pancreatico (PPoma)

Patologia neoplastica conosciuta nell’uomo e descritta, in forma simile, in un cane Cocker spaniel, femmina sterilizzata, di 7 anni di età.

La cagna presentava vomito cronico, gastrite ipertrofica, ulcere duodenali, adenocarcinoma pancreatico con metastasi al fegato, in un contesto organico caratterizzato da elevata concentrazione plasmatica del polipeptide pancreatico (PP). Le cellule neoplastiche presentavano evidente immunopositività per il polipeptide pancreatico (PP), ma non per gastrina, glucagone e insulina che sono gli immunomarcatori tipici delle neoplasie pancreatiche.

ORMONI RENALI E ORMONE NATRIURETICO ATRIALE

Il rene è coinvolto in quattro sistemi ormonali dell’organismo.

Il primo è il **sistema renina-angiotensina** che interviene nella **regolazione del metabolismo idrico-salino e regola la secrezione dell’aldosterone**.

Il secondo con la produzione di **chine** migliora gli **effetti dell’aldosterone e della vasopressina (ADH)**.

Il terzo con la secrezione di **eritropoietina** regola la **produzione di globuli rossi**.

Il quarto con l’**idrossilazione della Vit. D** la trasforma in **Vit. D3** che è la molecola attiva che, insieme alla calcitonina e al PTH, regola il **metabolismo del calcio**.

Nel cane e nel gatto si ha la prova di produzione di anticorpi neutralizzanti contro la somministrazione di eritropoietina umana ricombinante (rHuEPO). La produzione può essere precoce, dopo 4 settimane dall’iniezione, o tardiva,

mesi dopo l'inoculo.

Nel cane e nel gatto con insufficienza renale cronica, quale reazione avversa alla somministrazione di rHuEPO si registra la comparsa di convulsioni, d'ipertensione e di encefalopatia uremica.

Nel cane le lesioni cutanee e muco cutanee, su base allergica, sono poco comuni. La sintomatologia scompare dopo pochi giorni dall'interruzione della somministrazione di rHuEPO e spesso non ricompare dopo ripristino della terapia.

Il sistema renina-angiotensina causa in uomini nefropatici, per secrezione di renina, stati ipertensivi: ipertensione essenziale e ipertensione renovascolare. Nel cane e nel gatto patologie ipertensive imputabili a squilibri del sistema renina-angiotensina non sono ancora considerati un problema come nell'uomo.

Il peptide natriuretico atriale (ANP) è sintetizzato e immagazzinato nei **miociti delle camere atriali** ed è secreto dopo stiramento meccanico delle pareti atriali.

L'effetto primario è di controllare la **pressione sanguigna** aumentando la diuresi del sodio.

L'ANP agisce anche come rilassante della muscolatura liscia diminuendo il ritorno venoso al cuore.

Nel cane disidratato si osserva aumento dell'ANP plasmatica mentre questo non avviene in cani affetti da iperadrenocorticismo. La poliuria nei cani con iperattività della corteccia surrenale non è dovuta ad aumento della volemia ematica.

Nel cane non sono ancora descritte patologie specifiche relative all'ANP, ma è evidente che il peptide giochi un ruolo nella comparsa, nello sviluppo o nella stabilizzazione di patologie legate alla **regolazione della volemia**.

GHIANDOLE SURRENALI (*GLANDULE ADRENALIS O SUPRARENALIS*)

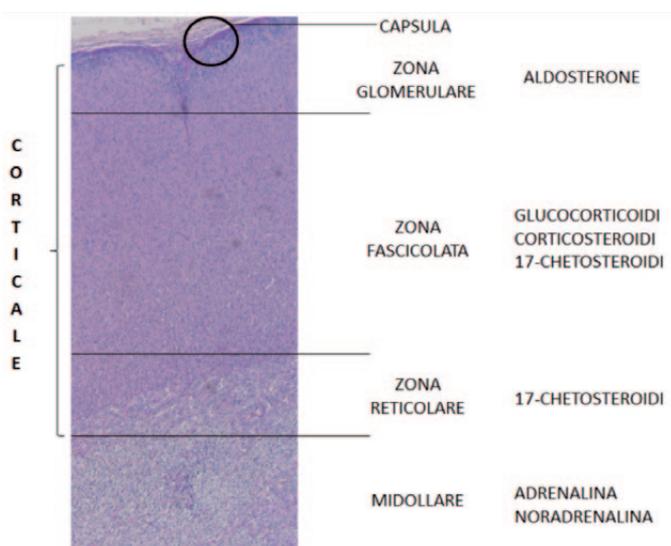
Le ghiandole surrenali, organi pari, traggono il nome dalla loro posizione anatomica, in prossimità del polo craniale e del margine mediale di ciascun rene.

Le ghiandole surrenali hanno forma, dimensioni ma anche posizione anatomica diversa in relazione alla specie, razza e peso: presentano due facce (*Facies ventralis* e *Facies dorsalis*), due margini (*Margo lateralis* e *Margo medialis*), un ilo (*Hilus*) e sono avvolte da una capsula (*Capsulae*).

Le ghiandole in sezione evidenziano una divisione anatomica ben apprezzabile che rispecchia la loro diversa origine ontogenetica: esternamente la corteccia surrenalica (*Cortex*) di colore giallo-grigiastro, per la presenza di lipidi negli elementi cellulari, che avvolge la parte interna, midollare (*Medulla*) di colore rosso-bruno per la presenza di numerosi vasi venosi.

L'organogenesi della ghiandola trae origine da diversi foglietti embrionali. La corteccia deriva dell'epitelio celomatico delle creste urogenitali, mentre la midollare e i paragangli dal neuroepitelio delle creste neurali. L'attività steroidosintetica della corteccia surrenalica inizia già durante la vita fetale e le due molecole secrete sono il deidroepindrosterone e il cortisolo. Il cortisolo interviene nell'organogenesi favorendo la maturazione del parenchima polmonare e nella sintesi del glicogeno epatico. Durante la gravidanza influenza l'adattamento dell'utero allo sviluppo corporeo del feto e, in prossimità del parto, condiziona l'ormonogenesi degli steroidi materni e partecipa ai complessi meccanismi di induzione al parto.

Dal punto di vista istologico la corteccia surrenalica è suddivisa in tre zone, che dall'esterno, in sede sottocapsulare, verso l'interno sono denominate: zona glomerulare (aldosterone), zona fascicolata (glucocorticoidi) e zona reticolare (androgeni, estrogeni, progesterone). Interposta tra le zone glomerulare e fascicolata si osserva la zona sudanofoba, sottilissimo strato di elementi epiteliali totalmente privi di materiale lipidico nel citoplasma.



Le cellule delle tre zone sono pure localizzabili utilizzando l'immunoistochimica contro l'ormone specifico. L'adrenocorticotropina (ACTH), secreta dall'adenoipofisi, è la principale tropina regolatrice dell'attività biosintetica e secretoria degli steroidi corticosurrenali.

La zona midollare è omogenea ed è costituita da cellule di tipo I, neuroendocrine, e di tipo II, o di supporto o satelliti. Le cellule neuroendocrine presentano immunopositività per Cromogranina A, Sinaptofisina ed Enolasi Neurone Specifica (NSE), mentre le cellule di supporto sono immunopositive per S-100.

La midollare del surrene è parte del Sistema Nervoso Simpatico, sistema endocrino analogo all'ipotalamo.

L'azione fisiologica delle catecolamine si esprime, per il mantenimento dell'omeostasi, in modo diretto e indiretto.

- a) Effetti diretti: emodinamici (> delle resistenze vascolari periferiche, > portata e gittata cardiaca, stimolazione della liberazione di renina) e metabolici (metabolismo lipidico, proteico e glucidico).
- b) Effetti indiretti: modificazioni di secrezioni di ormoni deputati al mantenimento dell'omeostasi metabolica (es. insulina).

Alterazioni ontogenetiche

Agenesia

Riscontrata nel cane si può presentare in forma monolaterale spesso a carico della surrenale sinistra; se bilaterale è incompatibile con la vita per la mancanza di produzione di ormoni mineralcorticoidi.

Ghiandole surrenali accessorie (*Glandulae adrenalis accessoriae*) si reperimentano frequentemente in molte specie domestiche; si rinvengono vicino o adese alla capsula surrenalica, nel grasso perirenale, nel *mesorchium*, porzione del mesentere primordiale che racchiude il testicolo fetale e nell'equino, in prossimità del testicolo.

L'**ipoplasia della corteccia surrenalica** è conseguenza dell'ipoplasia ipofisaria durante la vita fetale dell'animale. L'ipoplasia surrenalico-ipofisaria si associa a gravissime alterazioni di sviluppo del SNC (anencefalia, ciclopia). La corteccia surrenalica appare indivisa nelle tre zone, mentre lo sviluppo della midollare dell'organo è normale.

Nelle ghiandole surrenali dei ruminanti domestici si possono osservare foci di linfopoiesi extramidollare nella corteccia e nella midollare.

Processi degenerativi

Atrofia

L'atrofia delle ghiandole si osserva in corso di ipoadrenocorticismo (atrofia idiopatica cortico-surrenalica) e nella sindrome da stress dei suini.

Steatosi

È una patologia descritta in più specie animali; nel cavallo è stata osservata in soggetti colpiti da mioglobinuria paralitica, mentre nelle capre è stata documentata in animali affetti da brucellosi.

Necrosi

Le necrosi sono eventi patologici che si riscontrano tra la corticale e la midollare, in seguito a patologie tossico-infettive. Le aree necrotiche si presentano con parenchima rammollito, circoscritto, facilmente asportabile dal contesto tissutale, di colore giallo.

Nel cane una forma acuta bilaterale si annovera in corso di arterite. Negli agnelli sono descritte necrosi surrenaliche come conseguenza di fenomeni di fotosensibilizzazione secondaria, per ingestione di *Panicum coloratum*, mentre nei suini le necrosi sono osservate in corso di micotossicosi del genere *Fusarium* (T2).

Nei suini è ben conosciuta la tossicità selettiva per la zona glomerulare da sovradosaggio di composti appartenenti alla famiglia delle 1,4 – diossichinossaline (Carbadox e Oliquandox) .

Nel suino il selenito di sodio, presenta tossicità per la zona corticale.

Il virus dell'IBR è responsabile di lesioni necrotiche nel bovino, mentre negli agnelli si osservano lesioni in corso di infezioni da Bunyavirus responsabile della Rift Valley Fever.

Tra i batteri *Salmonella typhimurium* nel cavallo e a *Pausterella multocida* nel bovino possono causare necrosi surrenalica.

Cisti

Sono descritte con relativa frequenza nelle specie bovina, equina e canina. Sono esito di eventi emorragici o di necrosi parenchimali colliquative. Le cisti sono rivestite da epitelio cubico o cilindrico e il loro contenuto è caratterizzato dalla presenza di materiale sieroso, trasparente, o più denso di colore bruno.

Calcificazione

Depositi di sali di calcio a livello della capsula surrenalica sono un evento

frequente nel gatto (circa il 30% dei gatti a fronte di un 6% dei cani). Le mineralizzazioni possono presentarsi in forma mono o bilaterale e non sono causa di ipoadrenocorticismo. Le mineralizzazioni, di cui non sono ancora conosciute le cause, possono essere diagnosticate *intra-vitam* durante esami radiografici o ultrasonografici.

Le ghiandole, estesamente coinvolte, appaiono bernoccolute con focolai bianco-giallastri, stridenti al taglio e di difficile sezionamento. L'esame microscopico evidenzia la presenza di aree di necrosi tissutale e fenomeni associati di calcificazione, nelle prossimità delle quali si evidenziano focolai di cellule iperplastiche vicarianti.

Sclerosi della capsula

La sclerosi della capsula è tipica di vacche anziane con cisti follicolari ovariche, mentre nel toro anziano frequente è la comparsa, sulla capsula, di fenomeni di metaplasia ossea.

Amiloidosi

I depositi di sostanza amiloide sono tipicamente corticali, mai midollari e non sono causa di deficit funzionali della ghiandola. Tutte le specie animali possono esserne colpite ma è un rilievo comune nella sindrome da amiloidosi generalizzata del bovino.

Le lesioni, quando imponenti, sono visibili sulla sezione di taglio della corteccia come aree traslucide.

La zona fascicolata è la più colpita e spesso è la sola a esserlo e il deposito della sostanza amiloide inizia attorno ai suoi sinusoidi.

Emorragie

Le emorragie nelle ghiandole surrenali si osservano già alla nascita nei cuccioli di ogni specie. Si presume che siano collegate al trauma del parto. Emorragie diffuse si osservano anche in corso della "fase d'esaurimento" da risposta allo stress. Nel cavallo sono evidenti in casi di iperaffaticamento, tossiemia (torsione intestinale) e setticemia.

Telangectasia

Si rinviene nelle surrenali di animali adulti o anziani e le lesioni si presentano come formazioni focali di colore scuro soprattutto a livello della giunzione cortico-midollare della ghiandola, in seguito a fenomeni di necrosi tissutale si osserva ectasia dei sinusoidi ematici.

Pigmentazioni

Nei ruminanti sono descritte colorazioni nerastre attribuibili a melanosi.

Quadri di lipofuscinosi sono rinvenibili nelle cellule della zona reticolare di animali anziani, soprattutto bovini. Fenomeni di emosiderosi si rinvencono nelle ghiandole surrenali di equini affetti da Anemia Infettiva Equina. Nel suino è descritta una pigmentazione bruno-marrone in corso di porfirosi.

Processi infiammatori

Le infiammazioni delle ghiandole surrenali, denominate adrenaliti, sono legate a infezioni batteriche, virali e micotiche e a infestioni parassitarie.

I tessuti surrenalici, per specifica biosintesi e secrezione di glicocorticoidi, sono ricchi di anti-infiammatori bioattivi che sopprimono la risposta locale immuno-mediata e pertanto favoriscono la crescita di microrganismi tipici dell'organo immunocompromesso (miceti, protozoi e batteri).

Le forme purulente sono di solito localizzate e sono conseguenti a setticemie batteriche (*E. coli*), mentre le diffusioni d'infezioni per contiguità da altri organi sono un'evenienza rara. La capsula dell'organo è un'ottima barriera anatomica che protegge le ghiandole dalle infezioni. I batteri, negli stati setticemici, embolizzano e si arrestano nei sinusoidi surrenalici, dove provocano necrosi e suppurazione.

Le forme granulomatose sono conosciute e alcune sono legate a situazioni epidemiologiche geografiche. I cani che vivono in zone endemiche per *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis* e *Cryptococcus neoformans* possono presentare, a livello di surrenali, noduli multipli che in sezione appaiono necrotici e calcificati, inglobanti i parassiti positivi alle colorazioni elettive (Pas reazione, Grocott) o immunoistochimiche.

Lesioni tubercolari alle ghiandole surrenali sono state riscontrate nel bovino. Infezioni virali da Herpes virus del suino e del cane comportano emorragie, necrosi, comparsa di corpi inclusi. Le lesioni si rinvencono sia nella corteccia sia nella midollare delle ghiandole surrenaliche. Le lesioni necrotiche sono infiltrate e circondate da linfociti soprattutto nelle fasi terminali dell'infezione. Il quadro emorragico è tipico delle infezioni surrenaliche negli animali giovani, mentre negli anziani il quadro dell'infezione acuta si caratterizza con edema.

Corteccia della ghiandole surrenali

Iperplasia

L'iperplasia della corteccia surrenalica è un evento abbastanza comune di cui si conoscono quattro diverse forme: **noduli corticali accessori, iperplasia nodulare, iperplasia diffusa e iperplasia della zona glomerulare.**

I noduli corticali accessori sono facilmente reperibili a livello di tutte le strutture anatomiche della ghiandola soprattutto negli animali anziani. Si presentano come noduli biancastri che spesso protrudono oltre la zona corticale e sono delimitati dalla capsula della ghiandola.

L'**iperplasia nodulare**, frequente negli animali anziani (cani, gatti e cavalli) si caratterizza per la comparsa di formazioni spesso multinodulari e bilaterali, intracorticali o adese alla capsula, di forma sferoidale, di colore giallastro e di dimensioni variabili da qualche millimetro ai 2 cm di diametro. I citotipi riconoscibili nelle neoformazioni rispecchiano il fenotipo delle cellule d'origine: citotipo della zona glomerulare se il nodulo origina in prossimità della zona glomerulare della ghiandola o citotipo della zona fascicolata quando il nodulo origina in prossimità della zona fascicolata della corteccia surrenalica. Queste forme iperplastiche non sono funzionalmente attive, mentre l'iperplasia nodulare della zona reticolata è associata a secrezione di androgeni con fenomeni di mascolinizzazione nella femmina (anabolismo delle masse muscolari, ipertrofia del clitoride, involuzione della ghiandola mammaria).

L'**iperplasia corticale diffusa** è caratterizzata da ipertrofia bilaterale delle ghiandole surrenali per iperplasia delle cellule delle zone fascicolata e reticolare in seguito ad ipersecrezione di ACTH da parte di un adenoma della *pars distalis* della ghiandola pituitaria. Le cellule della zona glomerulare risultano compresse verso la capsula a causa dell'iperplasia/ipertrofia delle cellule delle altre due zone della corteccia surrenalica, mentre proiezioni di cellule iperplastiche possono ritrovarsi anche nella zona midollare della ghiandola.

L'**iperplasia della zona glomerulare** ha carattere compensatorio ad alterazioni emodinamiche renali croniche e di sbilanci idrico-salini per eccessiva e prolungata secrezione di renina da parte del complesso *juxtaglomerularis*.

L'**iperplasia delle cellule della zona glomerulare** è indotta dall'angiotensina che si forma in seguito alla secrezione di renina. Le cellule iperplastiche sono funzionali e secernono aldosterone.

Discrinie della corteccia surrenale

Discrinie della zona glomerulare

Ipofunzione (ipoaldosteronismo)

Uno stato particolare di ipoadrenocorticismo è descritto nel suino in seguito alla somministrazione per lunghi periodi di dosi elevate (150-200 ppm) di Carbadox o Oliquandox, un agente antibatterico e promotore di crescita, ma anche interferente endocrino, appartenente alla famiglia delle 1,4 - diosichinossaline. La lesione è selettiva per le cellule della zona glomerulare che appare disorganizzata nella sua citoarchitettura e le cellule presentano degenerazione vacuolare e atrofia. La zona lesa presenta fenomeni riparativi cicatriziali. Lesioni renali con disepitelizzazione dei tubuli sono spesso un quadro lesivo associato all'ipoadsteronismo.

Iperfunzione (iperaldosteronismo)

La disfunzione è stata descritta solo nella specie felina e riguarda un unico caso. L'animale presentava un'anamnesi di debolezza muscolare cronica, ipertensione, ipocaliemia, iperaldosteronismo ed un aumento delle concentrazioni plasmatiche di renina.

All'esame necroscopico fu rinvenuto a livello di corticale di una ghiandola surrenale un voluminoso carcinoma.

Discrinie della zona fasciolata

Gli stati morbosi disfunzionali che colpiscono la corteccia delle ghiandole surrenali sono stati identificati con i nomi degli scienziati che per primi li hanno descritti. L'ipoadrenocorticismo primitivo fu associato alla disfunzione della corteccia surrenalica dal Dr. Thomas Addison nel 1855, mentre nel 1932, il Dr. Harvey Cushing, neurochirurgo, associò l'ipercortisolemia alla presenza di adenomi adenoipofisari.

Ipoadrenocorticismo

L'ipoadrenocorticismo è espressione di insufficienza corticosurrenalica cronica e in base ai fattori eziologici può essere **primario** o **secondario**.

Il deficit ormonale è legato ad una diminuzione di secrezione sia di mineralcorticoidi sia di glicocorticoidi ed è descritto nel cane, nel gatto e nel cavallo. Nel cane la frequenza di insorgenza dell'ipoadrenocorticismo è pari allo 0,05% , di questi circa il 70% dei casi si registra nelle femmine e il 20% nei maschi castrati. Nel gatto l'ipoadrenocorticismo è raro e per il limitato numero di segnalazioni in questa specie (meno di 40) non si conoscono rischi di razza e di genere; può essere idiopatico o in alcuni casi conseguire a metastasi neoplastica di linfoma o iatrogeno per somministrazione di glicocorticoidi o di megestrolo acetato.

Forma primaria (assimilabile al morbo di Addison dell'uomo)

L'ipoadrenocorticismo primario è causato da estesi fenomeni di degenerazione o necrosi della corticale surrenalica in seguito a numerose patologie:

- **Atrofia surrenalica idiopatica**: si riscontra prevalentemente nel cane giovane di genere femminile, l'ipotesi eziopatogenetica immunomediata è supportata dalla presenza o di anticorpi anti-corteccia surrenalica o da infiltrati linfocitari nei tessuti ghiandolari. Si caratterizza con un'atrofia bilaterale di tutti gli strati della corticale.

- **Necrosi corticosurrenaliche iatrogene**: sono state osservate nel cane trattato con mitotane o trilosane, farmaci utilizzati per la terapia dell'iperadrenocorticismo.

- **Altre cause**: stati di ipofunzionalità corticale sono riferibili a fenomeni degenerativi (amiloidosi), emorragie, infarti, granulomi, neoplasie o traumi che interessano le surrenali.

Forma secondaria

L'ipoadrenocorticismo secondario riconosce tra i fattori eziopatogenetici condizioni che provocano una riduzione della secrezione di ACTH; tumori non funzionali dell'adenipofisi o ipotalamici o della corteccia surrenalica a cui consegue una diminuita secrezione di glucocorticoidi.

Iperadrenocorticismo o ipercortisolismo (Sindrome di Cushing)

L'iperadrenocorticismo o ipercortisolismo è una disendocrinopatia caratterizzata da uno stato cronico di ipersecrezione di cortisolo. L'ipercortisolismo può instaurarsi per adenomi ipofisari funzionali con ipersecrezione di ACTH, oppure per stati patologici intrinseci alla corteccia surrenalica; è diagnosticato frequentemente nelle specie canina, mentre è più raro nel gatto e nel cavallo. Nelle specie canina e felina l'80-85% dei casi di sindrome di Cushing sono causati **da un adenoma ipofisario funzionale ACTH-secernente** (Adenomi della pars distalis o intermedia dell'ipofisi) che comportano ipertrofia e iperplasia bilaterale della corticale surrenalica.

La seconda causa di sindrome di Cushing sono i tumori funzionali della corticale surrenalica, mono o bilaterali (10-15% dei casi di sindrome di Cushing), che producono cortisolo e inducono atrofia della porzione di surrenale non interessata dalla lesione neoplastica e/o atrofia della surrenale controlaterale.

È inoltre descritta una condizione di **iperplasia idiopatica della corticale**

surrenalica che appare ipertrofica, con irregolarità della giunzione cortico-midollare nei cani di razza Barbone.

Nella specie canina gli animali affetti da Cushing presentano poliuria, polidipsia, polifagia, addome pendulo per l'atrofia muscolare, obesità, debolezza muscolare e lesioni cutanee.

A livello cutaneo si osservano fenomeni di alopecia simmetrica e bilaterale delle regioni toraco-addominali; l'animale presenta prurito, seborrea e atrofia epidermica. I soggetti Cushing sono più suscettibili a infezioni e infestioni cutanee (piodermite e demodicosi) tipiche degli stati immunocompromessi linfopenici. A livello cutaneo sono pure rinvenibili fenomeni di *calcinosi cutis* e talvolta di ossificazioni metaplastiche.

Nel cane i quadri ematoclinici della sindrome di Cushing sono riferibili a neutrofilia, linfopenia e eosinopenia. Nel 85-95% dei cani si registra aumento dell'attività enzimatica della fosfatasi alcalina (ALP), e nel 50-80% dei casi anche dell'alanino amino-transferasi (ALT).

Nel cavallo affetto da sindrome Cushing si evidenzia polidipsia (anche 80 L/die), poliuria, polifagia, pelo arruffato, sudorazione e seborrea. A livello della fossa sopraorbitaria si osserva deposizione di tessuto adiposo con conseguente alterazione del profilo somatico della parte. Il cavallo con ipercortisolismo presenta laminite cronica, immunodepressione e infezioni respiratorie ricorrenti, infezioni cutanee e delle mucose orali.

Discrinie della zona reticolare

Nell'uomo è descritta la sindrome adreno-genitale, mentre non è ancora ben accertata negli animali domestici.

Tumori della corticale surrenalica

(WHO-AFIP, Kiupel M. et al. Tumors of the Endocrine System of Domestic Animals, 2nd ed., 2008)

adenoma adrenocorticale
carcinoma adrenocorticale
carcinoma adrenocorticale con degenerazione mixoide
lesioni pseudotumorali
iperplasia adrenocorticale
mielolipoma
cisti adrenali

Mielolipoma

È un tumore benigno frequentemente riscontrabile nei bovini e raramente in altre specie animali domestiche. Si caratterizza per la presenza, in un contesto di adipociti ben differenziati, di cellule delle diverse linee emopoietiche.

Adenomi della corticale

Si osservano frequentemente nei cani anziani. Nella specie caprina i maschi castrati presentano una maggior incidenza di adenomi della corticale surrenalica rispetto ai soggetti di genere maschile interi.

Sono di solito tumori singoli, ma possono anche presentarsi in forma bilaterale. Sono di colore giallo-rossastro, spesso incapsulati e interessano la corteccia surrenale determinandone un'alterazione del profilo dell'organo. L'adenoma può anche comprimere il parenchima ghiandolare intatto adiacente ed estendersi fino alla zona midollare. Il tumore si sviluppa in un contesto tissutale di iperplasia multinodulare. Le cellule tumorali appaiono come elementi ben differenziati, disposti in trabecole o nidi.

Carcinomi della corticale

Sono meno frequenti rispetto alle neoplasie benigne e si repertano soprattutto nel bovino e nel cane. Nel cane non è stata osservata alcuna prevalenza di genere o di razza, si presentano spesso in forma bilaterale e mostrano un colore giallastro. Le cellule tumorali sono voluminose, di forma poligonale con nucleolo evidente e citoplasma eosinofilo o vacuolizzato. Il tumore può metastatizzare per via ematogena (vena cava).

I tumori della ghiandola surrenale sia benigni, sia maligni sono frequentemente reperibili nel furetto.

Midollare delle ghiandole surrenali

Iperplasia

Uno stato iperplastico delle cellule della zona midollare sembra sia prodromo allo sviluppo di feocromocitoma nel toro. Le cellule cromaffini iperplastiche determinano un aumento volumetrico della zona midollare che comprime in modo uniforme la zona corticale con riduzione, anche marcata, dello spessore di quest'ultima. Le cellule iperplastiche sono cuboidali o cilindriche con citoplasma basofilo e si possono osservare elementi in mitosi.

Tumori della midollare delle ghiandole surrenali

(WHO-AFIP, Kiupel M. et al. Tumors of the Endocrine System of Domestic Animals, 2nd ed., 2008)

feocromocitoma
feocromocitoma maligno
ganglioneuroma
neuroblastoma
lesioni pseudotumorali
iperplasia della midollare

Feocromocitoma e feocromocitoma maligno

È un raro tumore che origina dalle cellule cromaffini (feocromociti) della zona midollare delle ghiandole surrenali; si osserva soprattutto nel cane e nei bovini, più raramente in altri animali domestici. Nel toro, come nell'uomo, il feocromocitoma si sviluppa in concomitanza ad altre neoplasie endocrine (adenomi o carcinomi delle cellule C della tiroide).

Il feocromocitoma può presentarsi in forma monolaterale o bilaterale e raggiunge o può superare anche i 10 cm di diametro. Questi tumori voluminosi sono di solito multilobati, di colore variegato (marrone-giallo-rosso) per la presenza di aree emorragiche e di necrosi .

Il feocromocitoma è popolato da elementi epiteliali neoplastici, cromaffini, epinefrina o norepinefrina secernenti o non secernenti. Può essere presente un unico citotipo secernente o entrambi. Le cellule di aspetto cubico o poli-

gonale presentano nuclei ipercromatici e citoplasma debolmente eosinofilo. I tumori di piccole dimensioni rimangono confinati nella zona midollare mentre quelli di grandi dimensioni risultano compressivi e si espandono contro la zona corticale della ghiandola. I **feocromocitomi maligni** metastizzano nel 50% dei casi e nel cane le sedi di metastasi sono la vena cava, l'aorta, i linfonodi regionali, la milza e i polmoni.

I **feocromocitomi secernenti** sono infrequenti negli animali e si manifestano con un corteo clinico-sintomatologico caratteristico correlato alla iperproduzione di catecolamine: tachicardia, edema, ipertrofia cardiaca, sclerosi arteriolare e ipertensione parossistica.

Tumori delle cellule del sistema nervoso simpatico delle ghiandole surrenali

(WHO-AFIP, Kiupel M. et al. Tumors of the Endocrine System of Domestic Animals, 2nd ed., 2008)

Neuroblastoma (simpaticoblastoma)

Sono tumori frequentemente osservabili negli animali giovani e sono associati alla presenza di voluminose masse intraddominali. Le cellule che li popolano presentano nucleo ipercromatico, scarso citoplasma e spesso sono arrangiate in rosette.

Ganglioneuroma

È un tumore benigno che colpisce le cellule gangliari multipolari.

Il tumore è caratterizzato dalla presenza di neurofibrille e di tessuto connettivo denso che si affiancano alle cellule neoplastiche gangliari.

Le cellule che lo compongono sono ben differenziate e nel bovino contengono granuli di melanina. L'effetto compressivo del tumore midollare sulla corteccia surrenalica è dimensioni-dipendente. Le cellule neoplastiche possono differenziarsi in due direzioni tanto da far coesistere due diversi tumori nella zona midollare: feocromocitoma e ganglioneuroma.

Tumori metastatici della midollare surrenalica

Nella midollare surrenalica si possono osservare emboli metastatici nei vasi venosi. I vasi venosi della midollare surrenalica hanno una bassa pressione, condizione che facilita la localizzazione e la crescita delle cellule neoplastiche. Di solito le metastasi si riscontrano in forma bilaterale e hanno origine da

neoplasie del sistema linfatico (linfomi) e dalla ghiandola mammaria. Le metastasi se raggiungono dimensioni ragguardevoli diventano compressive ed esercitano pressioni sulla zona corticale della ghiandola.

PARAGANGLI EXTRA-SURRENALICI

I paragangli, come la midollare delle ghiandole surrenali, originano dal neuroepitelio delle creste neurali. Aggregati di cellule gangliari neuroendocrine, diffuse in tutto l'organismo, formano il sistema paragangliare. Il loro numero è maggiore nel feto e nelle prime fasi della vita post-natale, per poi ridursi numericamente nelle fasi successive della vita.

Il sistema dei paragangli è intimamente interconnesso con il sistema nervoso autonomo. In base alla loro localizzazione anatomica possiamo suddividere il sistema dei paragangli in 4 grandi raggruppamenti:

- 1. paragangli branchi omerici (intracarotidei, aortico polmonari, giugulari-timpanici);**
- 2. paragangli intravagali (decorso del n. vago e contatti con il ganglio nodoso);**
- 3. paragangli aortico-simpatici (decorso dell'aorta addominale);**
- 4. paragangli viscerali (intrapolmonari, miocardio interatriale, vescica urinaria, ileo-epatici, mesenteriali).**

I paragangli o organi chemocettori sono popolati da due tipi di cellule, le principali e quelle di sostegno. Le cellule principali, o di tipo I, hanno aspetto epitelioide, sono raggruppate in nidi e presentano argirofilia del citoplasma, che contiene granuli immunopositivi per Cromogranina A, Sinaptofisina e NSE. Le cellule di sostegno, o di tipo II, sono disposte perifericamente ai nidi delle cellule principali, sono prive di granuli e sono S-100 immunopositive. Nei paragangli le cellule presentano granuli cromaffini e granuli contenenti catecolamine.

Il sistema dei paragangli è distribuito strategicamente lungo il decorso del Sistema Nervoso Vegetativo, con cui interagisce. Il globo carotideo e i paragangli aortico-polmonari (paragangli branchiometrici) sono popolati da cellule chemocentriche che registrano variazioni del pH del sangue e delle tensioni ematiche dell'O₂ e della CO₂. Negli animali domestici sono descritte patologie che interessano principalmente i paragangli con funzioni chemocentriche.

Iperplasia

Basse tensioni di ossigeno legate alle elevate altitudini provocano negli animali, che vivono a quelle quote, reazioni iperplastiche adattative delle cellule

principali dei paragangli. Nei bovini l'iperplasia delle cellule principali dei paragangli si osserva nella Brisket disease.

L'iperplasia si presenta, soprattutto a livello di cellule principali del glomo carotideo, anche in condizioni di stati di ipossia cronica, di cardiopatia congenita o acquisita e in corso di patologie polmonari. Nei popoli andini le cellule principali appaiono degranulate e vacuolizzate.

Neoplasie (WHO-AFIP, Kiupel M. et al. Tumors of the Endocrine System of Domestic Animals, 2nd ed., 2008)

Chemodectomi

adenoma del corpo aortico

carcinoma del corpo aortico

adenoma del corpo carotideo

carcinoma del corpo carotideo

paraganglioma giugulare

paraganglioma orbitale equino

paragangliomi ad altre localizzazioni

I tumori che originano dai paragangli o organi chemocettori sono denominati **Chemodectomi o Paragangliomi extrasurrenali non cromaffini**: sono tumori rari, descritti soprattutto nel cane, nel gatto e nel bovino e coinvolgono principalmente i paragangli branchiomericici (corpo carotideo e aortico-polmonari). Negli animali sono più frequenti a livello del corpo aortico mentre nell'uomo sono maggiormente osservati a livello di corpo o glomo carotideo. Sono colpiti maggiormente i cani di razze brachicefale (Boxer e Boston terrier) avvalorando l'ipotesi eziologica secondo la quale i tumori del corpo carotideo e del corpo aortico si sviluppano più frequentemente in razze in cui la conformazione anatomico-funzionale delle prime vie respiratorie non favorisce gli scambi gassosi e predispone a stati di ipossiemia cronica.

Chemodectoma (adenoma e carcinoma) del corpo aortico

Si presenta come una massa solida, liscia, arrotondata lungo il decorso dell'arteria polmonare e dell'aorta ascendente. La neoplasia è talvolta immersa nel tessuto adiposo interposto tra questi grossi vasi. Il tumore in sezione appare di colore biancastro uniforme o presenta strie rosso-brune.

Nel cane il carcinoma è più raro dell'adenoma; il carcinoma può infiltrare la parete dell'arteria polmonare e formare proiezioni papillari neoplastiche nel lume vascolare o invadere la parete degli atri ed estroflettersi nel loro lume camerale. Nonostante la presenza di cellule neoplastiche nelle pareti vasali le metastasi sono rare e, quando presenti, interessano polmone e fegato.

Chemodectoma (adenoma e carcinoma) del corpo carotideo

Si localizzano in prossimità della biforcazione della carotide comune, di solito come un'unica massa, monolaterale, a crescita lenta.

Gli adenomi presentano un diametro minore rispetto ai carcinomi, che possono presentarsi multinodulari. Il tumore si può estendere e inglobare la radice del nervo glosso-faringeo, a vena giugulare esterna e diversi nervi cranici. Sebbene i carcinomi siano delimitati da una capsula connettivale, le cellule neoplastiche infiltrano e penetrano nelle pareti dei vasi ematici e dei vasi linfatici adiacenti.

Le metastasi dei tumori del corpo carotideo si presentano nel 30% dei casi e le sedi più frequenti sono i polmoni, i linfonodi bronchiali e mediastinici, il fegato, il pancreas e i reni.

Spesso i tumori del globo carotideo e del corpo aortico sono associati.

Paraganglioma dell'orbita.

Nella specie equina l'esoftalmo può essere causato da un paraganglioma solitario.

Il tumore presenta nidi di cellule neoplastiche divisi da una fine trama connettivale. Le cellule presentano citoplasma debolmente eosinofilo e finemente granuloso, in cui si rileva immunopositività per Cromogranina A e per NSE, mentre sono immunonegative per S-100 e Sinaptofisina.

PATOLOGIE POLIENDOCRINE

Malattie poliendocrine

Nell'uomo le sindromi da deficit polighiandolari sono caratterizzate da carenze ormonali sequenziali o simultanee di diverse ghiandole endocrine. L'eziologia è spesso autoimmune. I sintomi dipendono dalla combinazione dei deficit. La diagnosi si basa sul dosaggio dei livelli plasmatici degli ormoni e degli anticorpi contro le ghiandole endocrine interessate.

La sindrome ha carattere familiare e si crede che abbia pure una base ereditaria. Si è osservata in animali, soprattutto cani, co-affetti da malattia autoim-

mune della tiroide e da ipoadrenocorticismo.

Nel cane esistono segnalazioni di ipotiroidismo primario e deficit cortico-surrenalico primitivo (ipocortisolemia da adrenalite linfocitaria), mentre nella specie equina esiste una segnalazione di poliendocrinopatia in una cavalla diabetica.

Nella cavalla l'esame istopatologico ha messo in evidenza una diffusa infiltrazione linfocitaria del pancreas, della corteccia e della midollare della ghiandola surrenale e della tiroide.

Neoplasie Multiple Endocrine (MEN)

I tumori endocrini multipli sono stati descritti nell'uomo essenzialmente in due forme principali: MEN I e II. Nelle specie animali domestiche MEN è stata descritta nelle specie canina, felina ed equina.

Nel gatto esiste la segnalazione in 2 soggetti maschi (12 e 13 anni), sterilizzati, che presentavano carcinomi multipli delle cellule B (beta) delle isole pancreatiche, adenoma corticotropo ipofisario e iperplasia delle cellule C della tiroide. I quadri anatomo-patologici erano suggestivi di una forma "MEN 1like".

Nel cane sono descritte forme MEN in cui il quadro anatomo-patologico talvolta è assimilabile alle forme MEN 2A (carcinoma midollare della tiroide, feocromocitoma e iperplasia delle ghiandole paratiroidi). Nel toro, come nell'uomo, il feocromocitoma si sviluppa simultaneamente al tumore delle cellule C della tiroide.

In altri casi non è possibile classificarli con la griglia proposta per l'uomo ma sono sicuramente delle loro varianti: **neoplasia tiroidea e adenoma cortico-surrenalico; feocromocitoma e iperparatiroidismo primario; adenoma corticotropo adenoipofisario, neoplasia corticosurrenalica bilaterale e feocromocitoma.**

Uno studio condotto su 63 neoplasie della tiroide del cane ha evidenziato nello stesso animale la co-presenza di più tumori del sistema endocrino.

Nel cavallo studi retrospettivi su materiale istopatologico d'archivio (72 casi) hanno evidenziato che stati iperplastici e neoplastici delle ghiandole tiroide e surrenali si verificano con una certa frequenza. I cavalli in cui è stata ricostruita la co-presenza dei vari stati disendocrinopatici avevano un'età non inferiore ai 20 anni.

Tabella n.5 **Classificazione dei Tumori MEN nell'uomo**

	MEN 1		MEN 2	
		MEN 2A	MEN 2B	FMTC
	<i>Sindrome di Wermer</i>	<i>Sindrome di Sipple</i>		<i>Carcinoma midollare tiroideo familiare</i>
Neoplasie pancreatiche	gastrinoma (50%)			
	insulinoma (20%)			
	vipoma			
	glucagonoma			
	PPoma			
Adenomi ipofisari	66%			
Iperplasia delle paratiroidi	90%	50%		
Carcinoma midollare della tiroide		100%	85%	100%
Feocromocitoma		>33%	50%	

CITOLOGIA DEL SISTEMA ENDOCRINO

I rilievi citologici di numerose lesioni endocrine o neuroendocrine per la loro localizzazione anatomica o per le piccole dimensioni derivano spesso da impronte di noduli prelevati chirurgicamente

I tumori del sistema endocrino rilasciano molte cellule ad eccezione degli aspirati dei carcinomi tiroidei che appaiono spesso contaminati da sangue; i nuclei sono rotondi od ovali con moderati (lievi) caratteri di atipia.

Tiroide

I noduli della tiroide sono per la loro localizzazione, le lesioni del sistema endocrino maggiormente sottoposte a indagini citologiche; inoltre i quadri citologici delle principali patologie della tiroide sono codificati ed il citopatologo è in grado di porre diagnosi di infiammazione o di indirizzare il giudizio diagnostico verso processi iperplastici o neoplastici (benigni o maligni) della ghiandola.

La tiroide è composta da follicoli di dimensioni variabili allineati da un epitelio semplice, cuboidale negli stati di quiescenza della ghiandola, da cuboidale a cilindrico quando la ghiandola è funzionale.

I rilievi citologici della tiroide normale mostrano piccoli aggregati (o foglietti) di elementi epiteliali coesi di cui si evidenzia soprattutto il nucleo, immersi in un citoplasma debolmente basofilo e con margini poco definiti; caratteristico è il riscontro nel citoplasma di granulazioni di colore nero-bluastro, riferibili a granuli di tirosina; spesso come fondo o associato ad aggregati cellulari microfollicolari si osserva materiale amorfo basofilo di colore grigio-bluastro o eosinofilo (a seconda della colorazione utilizzata) rappresentativo della colloide.

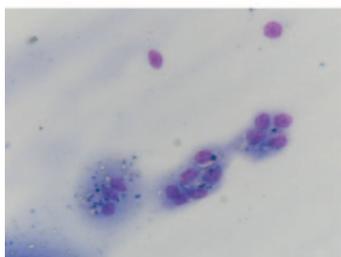


Fig. 2: citologia della tiroide normale nel cane (40x, MGG)

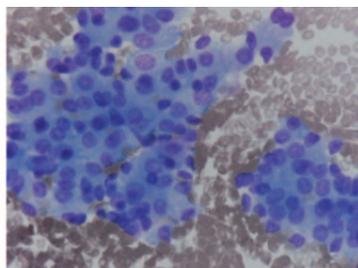


Fig. 3: Raskin R.E.: aspetti citologici di una neof ormazione tiroidea in un cane (40x, MGG)

La presenza della colloide, di granulazioni nero-bluastre intracitoplasmatiche e l'aspetto di nuclei nudi che assumono le cellule follicolari sono utilizzati per identificare citologicamente la tiroide (fig. 2).

I quadri citologici delle tiroiditi mostrano scarsa colloide, elementi epiteliali follicolari (tireociti), linfociti e plasmacellule nelle infiammazioni immunomediate o virali, granulociti neutrofili, macrofagi e /o cellule giganti plurinucleate nelle rare tiroiditi granulomatose: l'iperplasia è caratterizzata da tireociti di piccole dimensioni con nucleo ipercromatico su un fondo di abbondante colloide; spesso sia a livello intracitoplasmatico sia a livello extracellulare si osservano numerosi granuli nero-bluastri e cellule macrofagiche. Più complessa è l'interpretazione citologica tra formazioni nodulari iperplastiche e/o con caratteristiche neoplastiche benigne o maligne per le quali è indispensabile l'esame istologico della neoformazione (fig. n .

I tumori tiroidei sono frequenti nel cane, nel gatto e nel cavallo; clinicamente si presentano come noduli localizzati nella regione ventrale del collo, lateralmente ai primi anelli tracheali o a livello della regione craniale del mediastino. Tumori ectopici si evidenziano in cavità toracica a livello della base del cuore o alla base della lingua.

I tumori tiroidei mostrano un comportamento biologico variabile da specie a specie; i carcinomi sono rapidamente invasivi e possono coinvolgere strutture come la vena giugulare, l'arteria carotide e l'esofago. L'ipersecrezione di ormoni tiroidei si osserva nel 10% dei tumori.

I carcinomi tiroidei ben differenziati sono composti da una popolazione cellulare in cui si rilevano spesso lievi o moderati fenomeni di anisocariosi (pleomorfismo nucleare e nucleoli prominenti e di dimensioni diverse, indice mitotico medio-basso). Le cellule si presentano isolate o raccolte in aggregati o foglietti, spesso è possibile evidenziare una citoarchitettura follicolare o acinosa.

Nel gatto l'ipertiroidismo è dovuto principalmente a lesioni iperplastiche classificate come iperplasia adenomatosa benigna. I carcinomi funzionali si rilevano nell'1-2% dei gatti con ipertiroidismo. Appare difficile in questa specie effettuare biopsie aspirative della tiroide per le ridotte dimensioni della ghiandola anche in condizioni di ipertiroidismo.

Se i preparati citologici mostrano una popolazione cellulare uniforme senza caratteri di malignità l'indirizzo diagnostico è di una proliferazione neoplastica benigna, del resto spesso non è possibile differenziare citologicamente se un processo neoplastico è benigno o maligno e necessita la valutazione istologica della presenza di una capsula o dell'invasione dei vasi linfatici.

PARATIROIDI

I tumori delle paratiroidi sono infrequenti negli animali domestici, si osser-

vano soprattutto nel cane e nel gatto anziano, la lesione più frequente è l'adenoma delle cellule principali; raro appare il carcinoma diagnosticato in cani e gatti anziani. La valutazione citologica delle neoformazioni della paratiroide deriva spesso da impronte di noduli asportati chirurgicamente, essendo le neoformazioni paratiroidi di piccole dimensioni e difficilmente rilevabili alla palpazione della regione cervicale.

I quadri citologici dei tumori paratiroidi sono caratterizzati da aggregati di elementi cellulari con elevato rapporto N/C in cui spiccano nuclei rotondeggianti su un fondo debolmente eosinofilo; a volte è possibile osservare nel citoplasma delle cellule principali inclusi eosinofili aghiformi di cui non è conosciuta la natura.

SURRENALI

La lesione neoplastica più frequente della midollare surrenalica è il feocromocitoma, o tumore delle cellule cromaffini della midollare surrenalica. Si osserva in cani anziani senza predisposizione di razza o genere; raramente sono stati descritti nel gatto.

L'ecografia addominale permette di evidenziare la lesione tumorale, ma prima di approntare un prelievo bioptico della neoformazione necessitano indagini biochimico-cliniche in grado di escludere il feocromocitoma; infatti l'agoaspirazione ecoguidata (FNAB) del feocromocitoma può comportare il rilascio parossistico di catecolamine con gravi crisi ipertensive, tachicardia ed aritmie che possono determinare la morte del paziente.

Dal punto di vista citologico il feocromocitoma si caratterizza con una popolazione di elementi cellulari disposti in aggregati, con margini distinti, citoplasma pallido in cui a volte si osservano granulazioni. I nuclei sono rotondeggianti od ovali e possono presentare un singolo nucleolo. L'osservazione di diversi caratteri nucleari di malignità (pleomorfismo nucleare, anisocariosi, elevato rapporto N/C, nucleoli multipli) indirizzano verso un processo neoplastico con un elevato potenziale infiltrativo o metastatico.

L'impiego di colorazioni immunoistochimiche anti- Cromogranina A e Sinaptofisina sui preparati citologici indirizza la diagnosi verso una neoplasia della midollare del surrene e non verso processi neoplastici metastatici che possono invadere la midollare del surrene.

I preparati citologici di agoaspirati ecoguidati di noduli della corticale surrenalica mostrano elementi cellulari della zona fasciolata o reticolare ben differenziati, caratterizzati da ampio citoplasma amfifilo, in cui spesso si osservano numerosi microvacuoli, nuclei rotondeggianti con un singolo nucleolo.

PANCREAS ENDOCRINO

Il tumore più frequente del pancreas endocrino è l'insulinoma (proliferazione tumorale delle cellule β delle isole pancreatiche); si rileva con maggior incidenza nei cani di taglia medio-grande (Boxer, Pastore tedesco, Irish Setter, Poodles, Collies, Labrador Retrievers ecc), dopo i 5 anni di età.

Si possono effettuare prelievi citologici da neoformazioni del pancreas attraverso agoaspirati ecoguidati o nel corso di laparotomie esplorative. Le caratteristiche citologiche dell'insulinoma sono simili ad altri tumori endocrini; nei preparati si osservano numerosi nuclei nudi ed elementi cellulari con moderati fenomeni di anisocariosi e un nucleolo singolo prominente, immersi in un citoplasma debolmente basofilo, in cui si rilevano spesso numerosi piccoli vacuoli. Frequentemente gli insulinomi (β -cell tumor) del cane sono carcinomi, ma nei preparati citologici può essere difficile evidenziare caratteri di malignità; per valutare e predire il comportamento biologico della lesione necessitano indagini istologiche in grado di evidenziare l'infiltrazione e l'invasione delle vie linfatiche e biochimiche-cliniche accurate (grave ipoglicemia e un alterato rapporto insulina/glucosio) .

CHEMODECTOMI o PARAGANGLIOMI NON CROMAFFINI

I tumori delle cellule chemocettrici si presentano primariamente nei corpi aortici e carotidei: sono tumori non comuni del cane anziano tra i 10 e 15 anni di età, raramente riportati nel gatto.

I tumori dei corpi aortici comportano segni clinici associati allo scompenso cardiaco soprattutto del cuore di destra, con presenza di un grave versamento pericardico; la valutazione citologica del versamento difficilmente permette di evidenziare le cellule tumorali e di differenziarle dalle cellule mesoteliali presenti nel liquido patologico; dopo la pericardiocentesi è possibile evidenziare la neoformazione presente alla base del cuore ed effettuare agoaspirati ecoguidati della lesione.

I preparati citologici presentano i caratteri morfologici tipici dei tumori neuroendocrini; appaiono moderatamente cellulati e le cellule si presentano come nuclei nudi su un fondo di citoplasma debolmente basofilo senza evidenziare i margini cellulari; i nuclei sono rotondi con cromatina addensata ed un singolo nucleolo prominente. Nei tumori maligni (carcinomi del corpo aortico) si osservano da moderati a gravi fenomeni di anisocariosi, nucleoli multipli, pleomorfismo cellulare, cellule giganti di forme diverse.

La diagnosi differenziale tra chemodectomi e tumori tiroidei ectopici si basa

soprattutto sulla presenza nei preparati citologici di sostanza colloide o granuli di pigmento bruno-nerastro intracitoplasmatici che indirizzano verso una lesione tumorale di origine tiroidea.

Testi Consultati

Guarda, Mandelli: Trattato di Anatomia Patologica degli animali domestici (UTET)

Marcato P.S.: Patologia Sistemica Veterinaria , (Edagricole) 2003

M. Donald McGavin: Patologia Veterinaria Sistemica, 2010, La Perle

K.M.D., Sistema Endocrino, 379-426, 4 edizione, Elsevier.

WHO-AFIP, Kiupel M. et al. Tumors of the Endocrine System of Domestic Animals, 2nd ed., 2008

Feldman and Nelson, Canine and Feline Endocrinology and Reproduction - Third Edition, Ed. Saunders, 2004.

Jubb, Kennedy and Palmer's. Pathology of Domestic Animals - Vol 3 – C.C. Capen, Endocrine Glands, 325-428, Fifth Edition, Edited by M Grant Maxie, Ed.Saunders, 2007.

Raskin R.E et al,: Canine and feline cytology: a color atlas and interpretation guide, Second Edition, 2010, Saunders- Elsevier



Dieterich'sche Verlagsbuchhandlung
Theodor Weicher