



1998-2000

תקופת המחקר:

356-0339-00

קוד מחקר:

גישה חדשנית להגברת הכשרות בעגלי פיטום.

שם

IMPROVE KOSHER STATUS IN BEET STEERS

המחקר:

מוסד: מינהל המחקר החקלאי, ת.ד. 6 בית דגן 50250

חוקר ראשי: ד"ר מרק פינס

מאמרים:

חוקרים שותפים: מר מאורי רוזן

תקציר

סרחות ריאה הם הגורם העיקרי לאי כשרות של עגלי בשר. הסרחות נובעת מדלקת ריאות בגיל הצעיר, שבשלב מאוחר יותר מתפתח להצטלקויות על פני רקמת הריאה. הצטלקויות אלו יוצרות סרחות (הדבקויות) שהן קשר בין רקמת הריאה לקיר הגוף או רקמות אחרות. סרחות אלו מורכבות מקולגן מטיפוס 1. הלופוגינון הוא מעכב ייחודי של הגן לקולגן. בעבודות קודמות הראנו שהלופוגינון הניתן במזון מעכב יצירת הידבקויות בריאות, מעיים וחצוצרות בחולדות. עד עכשיו ערכנו שני ניסויים בבקר כדי לבחון האם מתן הלופוגינון במזון יקטין או ימנע את הופעת הסרחות. בשני ניסיונות אלו לא נצפתה ירידה בכמות הסרחות בעגלים שקיבלו הלופוגינון במזון. על ידי החדרת הלופוגינון ישירות לכרס הפרה או ישירות למעי ובחינת רמות הלופוגינון בדם, מצאנו שהסיבה לחוסר פעילותו של הלופוגינון במערכת זו היא מטבוליזם של הלופוגינון בכרס. כדי ולהמשיך עבודה זו יש להגן על הלופוגינון שלא יעבור פרוק בכרס. ירידה ברמת סרחות הראה תעלה את רווחיות החקלאי בצורה ניכרת.

הגברת הכשרות בעגלי פטום

Improve kosher status in beef steers

מוגש על ידי ד"ר מרק פינס - המכון לבעלי חיים, מכון וולקני וד"ר מאורי רוזן המחלקה לבקר בשירות ההדרכה והמקצוע.

Mark Pines and Maori Rosen

Institute of Animal Sci. The Volcani Center and
Extension Service

e-mail: VLMPINES@VOLCANI.AGRI.GOV.IL

תאור הבעיה

הביקוש לעגלים ברמת כשרות גבוהה עולה עם השנים ופער במחיר בין עגל כשר לעגל חלק יכול להגיע לסכומים גבוהים ביותר. מחלות ריאה בגיל צעיר הגורמות להצטלקויות הריאה - סרחת ריאה - הם המקור העיקרי לכשרות הגרועה בבקר הפריזי. ממדי התחלואה בדלקת ריאות הולכים ועולים ועימם שיעור העגלים המוטרפים. מתוך כ- 60.000 עגלי רפת המפוטמים בארץ בשנה רק כ- 30.000 נשחטים תחת השגחה רבנית ומתוכם רק כ- 21.000 נמצאים כשרים, וכל השאר נמצאים טרפים על בסיס ריאתי.

הערכת הנזק הכלכלי

כיום פודה עגל פריזי כשר במשקל נקי של 450 ק"ג כ- 3600 ש"ח לעומת 3000 באם יצא טרף כלומר הפסד של 600 ש"ח לעגל. באם העגל יוצא "חלק" הרווח של החקלאי יגדל ב-150 ש"ח. מכאן שבעלויות יצור קבועות עשוי הבוקר להרוויח עד 750 ש"ח נוספים לראש בקר שהוגדר כחלקי לעומת זה שהוטרף. על 30,000 עגלים פריזיים בשנה במגזר הכשר זה תוספת רווח של 22 מיליון ש"ח.

מכאן שהבעיה הכלכלית היא גדולה ביותר. בנוסף יש לזכור:

א- ככל שיותר עגלים נימצאים טרפים בשחיטה, ההפרש במחיר בין כשר לטרף עולה.

ב- עד היום השוק הלא יהודי רכש כ-30,000 עגלים פריזיים. היות והאוטונומיה הקטינה ביותר את כמות העגלים שהיא רוכשת קשה למכור עגלים לא כשרים במחיר סביר, וגדל הפער במחיר בין בשר כשר ללא כשר.

ג- על פי ההלכה, אם % הטרפה מסרחת ריאה ירד באופן קבוע מתחת ל-10% אזי יפסיקו השוחטים לבדוק את סרחת הריאה וההוצאות על בדיקת הכשרות תרדנה בצורה משמעותית.

סרחות ראה בבקר

שיעורי התחלואה בעגלים הם גבוהים ולגורמים סביבתיים וממשקיים כגון צפיפות העגלים, תנאי המגורים, אוורור ועוד, השפעה על שיעורי התחלואה. אפשרויות הטיפול כיום הן מוגבלות ומרכבות בעיקר ממתן אנטיביוטיקה בגיל צעיר.

כ- 90% מהסיבות לטרפת הבקר זה בגלל סרחת הריאה. בקר ימצא טרף על בסיס ריאתי במקרים בהם דלקת חריפה גרמה להצטלקות רבה אשר

חרגה מדפנות הריאה לכוון דופן הגוף (סירחת ריאה). בקר ימצא כשר על בסיס ריאתי כאשר לא קיימת סרחת ריאה אך קיימת צלקת ריאתית פנימית המחברת את קרום הריאה אל הריאה כתוצאה מתחלואה קלה. בקר ימצא חלק באם ריאותיו נקיות לחלוטין מצלקות בקרום הריאה. בנוסף לנושא הכשרות, הדבקויות בריאות גורמות לירידה בנפח הנשימה של הבקר ופוגע בגדילה התקינה שלו.

הצלחת תוכנית זו תביא:

א- לעליה משמעותית בבקר הכשר והחלק ותגדיל בצורה משמעותית את הרווח של המגדל.

ב- תקטין את הצורך בשימוש באנטיביוטיקה כאמצעי להורדת תחלואת הריאות.

ג- ירידה ברמת ההצטלקויות תפחית את הנזק לריאות ותגדיל את ביצועי הפרות.

הלופוגינון - מעכב יחודי של קולגן מטיפוס I

לאחרונה גילינו שהקוקסידיוסטט הלופוגינון המשמש בעופות נגד מחלות מעיים הוא מעכב יחודי ביצור קולגן מטיפוס I (1). על ידי שימוש בתאים המייצרים יותר מטיפוס אחד של קולגן מצאנו שהלופוגינון מעכב באופן יחודי את ביטוי הגן ל- $\alpha 1(I)$ קולגן שהיא אחת מתת היחידות המרכיבות את הקולגן מטיפוס I (2). לא נמצא עיכוב בביטוי הגן $\alpha 2(I)$, קולגן מטיפוס II מטיפוס III (7) או מטיפוס X. הלופוגינון הוא מעכב היחיד המעכב ביטוי הגן של טיפוס יחודי של קולגן. בתרביות רקמה הראנו שהלופוגינון מעכב יצור קולגן בתאים מרקמות שונות מעופות, חולדות, עכברים ואדם (1,2) - כלומר אין להלופוגינון יחודיות לסוג התא או לבעל חיים כזה או אחר.

בנסיונות *In vivo* הראנו בחיות מעבדה את יעילות החומר בעיכוב יצור קולגן והצטלקויות במודלים המייצגים מחלות שונות. הזרקת הלופוגינון לעכברים שהושטל בהם תאי טחול מקו אחר של עכברים מנעה את יצור עודף הקולגן בעור המאפיין את מחלת השתל כנגד מאכסן (4). הזרקת הלופוגינון גרמה גם לירידה בביטוי הגן לקולגן מטיפוס I בעכברי TSK - קו גנטי של עכברים המייצר עודף קולגן בעור - והביאה את רמת הקולגן לרמה שנמצאה בקו ההורי (4). תוספת של הלופוגינון במזון גרמה לירידה ברמת הקולגן בעור של עופות כתלות ברמת הלופוגינון במנה (5), ולמניעת ביטוי הגן לקולגן מטיפוס I ומניעת שחמת כבד בחולדות לאחר מתן של רעלן (6).

סרחות עודף או הדבקויות נוצרות גם במעיים בעיקר לאחר ניתוחי בטן. סרחות אלו שיכולות להיות בין לולאות שונות של המעי או בין המעי לדופן הבטן הם היום הבעיה העיקרית של החולים אחרי ניתוחים אלו היות וההדבקויות מקטינות או מונעות את האפשרות לפריסטלטיקה של המעי. את החולים הסובלים מהדבקויות יש לנתח שוב כדי לנתק את ההדבקויות, אך בהרבה מקרים הניתוח גורם להדבקויות חדשות. נתינת הלופוגינון במנה או הזרקתו לחלל הבטן לחולדות שבהם אנו משרים הווצרות סרחות במעי על ידי שפשוף המעיים (חיקוי ליצירת פצע) מונעת את העליה בגן לקולגן מטיפוס I באזור הפצע ומורידה את מספר ההדבקויות הנוצרות ואת גודלן במאות אחוזים (7). בנוסף, הראנו שהלופוגינון מדכא

יצירת הדבקויות ברחם של חולדות המהווה את אחת הסיבות העיקריות לאי פוריות (8) בריאות בבני אדם נוצרות סרחות בעיקר לאחר מתן בליאומיצין שהיא אנטיביוטיקה הנתנת לחולי סרטן העוברים כמותרפיה והגורמת להצטלקויות בריאה בגלל עודף יצור קולגן מטיפוס I. הזרקת הלופוגינן לחולדות שטופלו בבלאומיצין מנעה את הווצרות סרחות העודף (9).

אנו נמצאים כרגע בשלב של פיתוח הלופוגינן כתרופה למחלות עם עודף יצור קולגן בבני אדם. לאחר קבלת אישור ועדת הלסינקי לשימוש בתרופות נסיוניות, טיפלנו בחולה עם מחלת השתל כנגד מאכסן לאחר השתלת מח עצם. טיפול בהלופוגינן גרם לירידה בביטוי הגן לקולגן $\alpha 1(I)$, לירידה בכמות הקולגן בעור ולירידה בהצטלקויות (10).

בכל המחקרים שבצענו עד היום, כולל בחולים, לא נמצאו תופעות לוואי שליליות בריכוזי הלופוגינן שהשתמשנו. לדוגמא, לא נמצאו הבדלים במבנה הרקמות כמו כבד או ראות ברמה המיקרוסקופית לאחר מתן הלופוגינן (6-9). לא נמצא הבדל בקצב הגדילה של אפרוחים ובנצילות מזון של אפרוחים שקיבלו עד 3 mg/kg הלופוגינן במנה מיום בקיעה ועד שחיטה (7 שבועות) (5). בחולים שנמצאים במעקב רפואי צמוד, לא נצפו תופעות שליליות בבדיקות הדם כולל אנזימים הקשורים לתפקודי כבד.

עובדה נוספת שיש לזכור היא שהיות והקולגן הוא חלבון חוץ-תאי בעל מחצית חיים ארוכה ביותר, ביטוי הגן לקולגן מטיפוס I בבעל חיים בריא הוא נמוך ביותר בכל הרקמות. רק בשלב של יצור הצלקת לאחר הטראומה יש עליה של אלפי אחוזים בביטוי הגן. לכן, שנותנים הלופוגינן בצורה סיסטמית (האכלה או הזרקה) הוא משפיע בעיקר על אברי המטרה שבהם ביטוי הגן הוא גבוה במיוחד. השפעת הלופוגינן היא הפיכה, והרחקתו תחזיר לתאים את היכולת לייצר קולגן מטיפוס זה (2) מכאן, שאין חשש שהלופוגינן יגרום לנזק לרקמות הבריאות.

כל התוצאות הללו מצביעות על העובדה שהלופוגינן הוא מעכב יחודי לקולגן מטיפוס I ויכול לשמש כתרופה בטוחה במגוון של מחלות שבהם קיים עודף יצור של קולגן מטיפוס I.

בעבודה מקדימה הראנו שסרחות הראה בעגלים מורכבים מקולגן ומכילים תאים המבטאים את הגן לקולגן מטיפוס 1. מכאן שעיקוב יצור הקולגן יכול למנוע את סרחות הראה.

כדי לענות על שאלה זו, התחלנו שני ניסויים בעגלים בשני משקים שונים המגדלים עגלים מקווים שונים.

ניסוי 1 - כפר יהושע

בעלי החיים - נבחרו 36 עגלים שחור לבן ישראלים במשקל התחלתי של 41 ק"ג ובגיל התחלתי של שבוע. העגלים חולקו על פי משקלם לשתי קבוצות של 18 עגלים. העגלים כולם נשקלו בהתחלת הניסוי ובהמשכו בהפרשים של 45 יום, סה"כ 2 שקילות. משך האבסת הלופוגינן עד הכנת הדוח היה כ-100 יום.

המזון - המזון חולק לשתי מנות. א- מנה רגילה המקובלת במשק שבו נערך הניסוי שהוא בליל יונקים ומנה של תערובת פיטום סטנדרטית בתוספת של 2ppm של הלופוגינון וקש.

ניהול ההזנה - המזון הוגש לאורך האבוס בכמויות שוות ובצורה חופשית. המזון הוגש פעם ביממה. כמויות המזון ניתנו בשקים שקולים.

בדיקת סרחות ראה - בגיל 5 חודשים נלקחו העגלים לשחיטה. נעשתה בדיקת כשרות ומספר ועוצמת סרחות הראה נבדקו.

תוצאות ומסקנות (ראה פרוט בדוח של שנה א)

א- לאחר מספר נסיונות הקדמיים מצאנו את ריכוז ההלופוגינון שאפשר לתת לעגלים במנה ללא פגיעה בעליה במשקל. הריכוז הממומלץ הוא 2ppm

ב- נמצאה שריכוז זה של הלופוגינון לא רק שלא גרם לפגיעה בתוספת המשקל היומית של העגלים הוא אף גרם לעלייתה בצורה משמעותית. ישנם לפחות שני הסברים לתופעה זו.

א- העגלים סובלים מקוקסידיה והלופוגינון בהיותו אנטיקוקסידיוסטט גרם לעגלים המטופלים להיות נקיים מהטפילים ולכן הם עלו יותר במשקל. ב- הלופוגינון לא גרם לירידה במספר ההדבקויות בריאה הנובעות מדלקת ריאות בגיל צעיר.

ניסוי 2 - עין המפרץ

בעלי החיים - נבחרו 40 עגלים פולנים בגיל התחלתי של 10 ימים. העגלים חולקו על פי משקלם לשתי קבוצות של 20 עגלים. העגלים כולם נשקלו בהתחלת הניסוי ובהמשכו נשקלו בהפרשים של 45 יום, סה כ 2 שקילות. **המזון**, ניהול ההזנה בדיקות וטרינריות, ומדידה מדויקת של כמות המזון הנאכל על בסיס יומי נעשו כמו בניסוי הראשון.

תוצאות ומסקנות (ראה פרוט בדוח של שנה ב)
גם בניסוי זה לא נמצאו הבדלים מובהקים ברמות סרחות הראה כפי שקיבלנו בניסוי הראשון.

שני הניסויים הראשונים שהראו בברור שמתן הלופוגינון במנה לא מנעה את מספר ההידבקויות ולכן לא מנעה גם את הנזק בכלכלי הנובע מכך. מצד שני יש ברשותנו מאגר ידע רחב ביותר המראה שהלופוגינון מנע הדבקויות בבעלי חיים כמו חולדות ועכברים. אחת האפשרויות היכולה להסביר סתירה זו היא שבגלל המבנה היחודי של מערכת העיכול בבקר הכולל כרס שבו מגוון רחב של חיידקים היכולים לגרום למטבוליזם של התרופה למעשה הלופוגינון לא הגיע לדם ולכן לא מנע את ההדבקויות. לבחון אפשרות זו נעשה ניסוי שבו השתמשנו בפרות שבהם יש באפשרותנו להחדיר את ההלופוגינון ישר לכרס (חיקוי של מתן במנה) או להחדירו ישר למעי ללא מעבר בכרס.

לשתי פרות הוכנסו 200mg הלופוגינן פעיל כאשר בפרה אחת הוחדר החומר לכרס ולשניה לאבומזום. בזמנים שונים לאחר מתן התרופה נאספו דוגמאות דם לבחינת כמות ההלופוגינן בהם. הדם הופרד לפלסמה שנשמרה בהקפאה עד לאנליזה של הלופוגינן שנעשתה ב-HPLC. התוצאות מובאות בציור מספר 1.

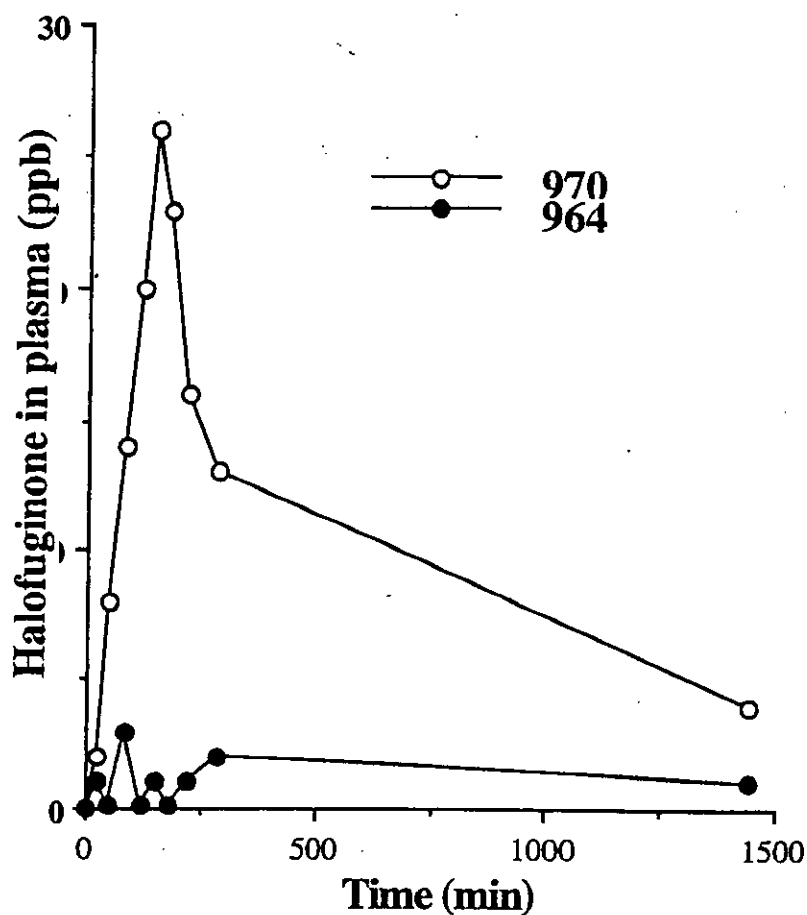
אפשר לראות שכאשר הוחדר הלופוגינן לכרס רמות הלופוגינן בפלסמה היו זניחות והערכים נעו בסביבות של 1-2 ppb מצד שני כאשר הוחדר הלופוגינן ישר לאבומזום ולא עבר בכרס נמצאו רמות של הלופוגינן של 8ppb כבר לאחר 50 דקות שהגיעו לשיא של 25 ppb לאחר כשעתיים ועשרים דקות. לאחר מכן חלה ירידה ברמות ההלופוגינן בפלסמה עד 24 שעות לאחר התחלת הניסוי.

מסקנות ותוכניות לעתיד

תוצאות ניסוי זה מסבירות מדוע מתן הלופוגינן במנה לא גרם להקטנה של מספר סרחות הראה ולא גרם לעליה בכשרות. הלופוגינן שעובר דרך הכרס מתפרק ואיננו מגיע לדם. לכן, במידה ורוצים להשתמש בהלופוגינן בעתיד למניעת סרחות ראה יש להשמש בהלופוגינן מוגן שלא יתפרק בכרס ויספג רק במעי. טכנולוגיה של הכנת חומר מוגן קיימת ומשתמשים בה כיום למשל לציפוי חומצות אמינו כדי שלא יתפרקו בכרס אלה יספגו במעי. חלק מהטכנולוגיות הללו בנויות על הפרשי החומציות בין הכרס לבין המעי.

- 1- Granot I., Hurwitz S., Halevy O. and Pines M. (1993) Halofuginone: an inhibitor of collagen type I synthesis. *Biochim. Biophys. Acta* **1156**, 107-12.
- 2- Choi E.T., Callow A.D., Sehgal N.L., Brown D.M. and Ryan U. S. (1995) Halofuginone, a specific collagen type I inhibitor, reduces anastomotic intimal hyperplasia. *Arch. Surg.* **130**, 257-61.
- 2- Halevy O., Nagler A., Levi-Schaffer F., Genina O. and Pines M. (1996) Inhibition of collagen type I synthesis by skin fibroblasts of graft versus host disease and scleroderma patients: Effect of halofuginone. *Biochem. Pharmacol.* **52**, 1057-1063.
- 4- Levi-Schaffer F., Nagler A., Slavin S., Knopov V. and Pines M. (1996) Inhibition of collagen synthesis and changes in skin morphology in murine graft-versus-host disease and tight skin mice: Effect of halofuginone. *J. Invest. Dermatol.* **106**, 84-88.
- 5- Granot I., Bartov I., Plavnik I., Wax E., Hurwitz S. and Pines M. (1991) Increased skin tearing in broilers and reduced collagen synthesis in skin *in vivo* and *in vitro* in response to the coccidiostat halofuginone. *Poult. Sci.* **70**, 1559-1563.
- 6- Pines M., Knopov V., Genina O., Lavelin I. and Nagler A. (1997) Halofuginone, a specific inhibitor of collagen type I synthesis, prevents dimethylnitrosamine-induced liver cirrhosis. *J. Hepatol.* **26**, In press.
- 7- Nagler, A., Rivkind, A.I., Raphael, J., Levi-Schaffer, F., Genina, O., Lavelin, I., and Pines, M. Halofuginone - an inhibitor of collagen type I synthesis - prevents post-operation abdominal adhesions formation. Submitted.
- 8- Nagler A., Firman N., Feferman R., Cotev S., Pines M. and Shoshan S. (1996) Reduction in pulmonary fibrosis *in vivo* by halofuginone. *Am. J. Resp. Critical Care Med.* **154**, 1082-1086.
- 9- Hirvonen, J., Pyorala, S., and Jousimies-Somer, H. (1996). Acute phase response in heifers with experimentally induced mastitis. *J. Dairy Sci.* **63**, 351-360.
- 10- Pfeffer, A. and Rogers, K. M. (1989) Acute phase response of sheep: Changes in the concentrations of cerulplasmin, fibrinogen, haptoglobin and the major blood cell types associated with pulmonary damage. *Res. Veter. Sci.* **46**, 118-124.

Halofuginone levels in plasma



ציור 1. רמות הלופוגינון בפלסמה של פרות
 הלופוגינון במנות זהות הוחדר ישירות לכרס (פרה 964) או ישירות לאבומזום
 (פרה 970). בפרקי זמן שונים נלקחו דוגמאות דם לבחינת רמות הלופוגינון.
 רמות הלופוגינון נקבעו בפלסמה ב-HPLC.