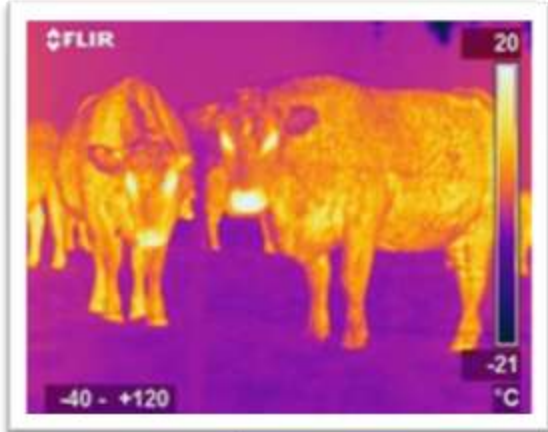


השפעה של מזהמים סביבתיים על איכות תאי זרע של בקר

דורית קלו¹, אליסה קומסקי-אלבז¹, יואל זרון², צבי רוט¹

גורמים המעורבים בירידה בפוריות



• מצב גופני

• מזג אוויר – עקת חום

• תחלואה

• גנטיקה

• חשיפה לחומרים מזהמים
מהסביבה והמזון

ממצאי בדיקת רעלנים

מספר מעבדה	תאריך דגימה	תאריך קבלה	סימון לקוח	בדיקה	יבש	טרי
99091	14-יוני-25	14-יוני-25	1 סככה מפטמה מס 0-52	חומר יבש DM (%)	90.52	
				אפר Ash (%)	6.08	6.72
				דון - Don (ppm)	0.28	0.31

מספר מעבדה	תאריך דגימה	תאריך קבלה	סימון לקוח	בדיקה	יבש	טרי
99091	14-יוני-25	14-יוני-25	1 סככה מפטמה מס 0-52	חומר יבש DM (%)	90.52	
				אפר Ash (%)	6.08	6.72
				דון - Don (ppm)	0.28	0.31
				אפלטוקסין Aflatoxin (pb)	8.16	9.02
				זארלינון Zearalinon (pb)	149.18	164.80
				טי2 T2 (ppb)	104.36	115.29

99092	14-יוני-25	14-יוני-25	2 סככה מפטמה	זארלינון Zearalinon (pb)	122.53	184.20
				טי2 T2 (ppb)	70.26	105.62

דוגמא

רמות מותרות של מזהמים סביבתיים שונים

חומר	רמה מותרת (PPM)	סיווג
אפלטוקסין	0.02	מיקוטוקסינים במזון
דון 2	12	
זראלינון	3	
ארסן	100	מתכות כבדות
קדמיום	30	
עופרת	400	
אטרזין	0.002	חומרי הדברה
DDT	0.5	



אפלטוקסין

- תוצרי לוואי טוקסים של *Aspergillus* ו- *Aspergillus flavus* *parasiticus* המצויה בגידולי תירס, בוטנים וגידולי שדה נוספים המהווים מרכיב חשוב במנת ההזנה.



- ישנם כמה סוגים: G1, G2, B1, B2

- אפלטוקסין B1 (AFB1) הינו הטוקסי ביותר ומסווג כקרצינוגן. המטבוליט שלו AFM1 נמצא בחלב.

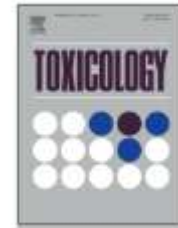
Shen et ., 1994; Carvajal-Moreno, 2015

השפעה של אפלטוקסין על איכות תאי הזרע





Toxicology

Volume 393, 15 January 2018, Pages 42-50



Full length article

Aflatoxin B1 impairs sperm quality and fertilization competence

A. Komsky-Elbaz, M. Saktsier, Z. Roth  

 [Show more](#)

<https://doi.org/10.1016/j.tox.2017.11.007>

Methylmercury

[Get rights and content](#)



אטרזין

- חומר הדברה (קוטל עשבים) נפוץ לשימוש בסביבת גידולים חקלאיים כמו תירס, קנה סוכר ועוד. ידוע כבעל יכול לשבש פעילות אנדוקרינית

Kucka et al., 2012; Jin et al., 2010

- מוגדר כמזהם סביבתי, המצוי במי תהום ומי שתייה

Barr et al., 2007

- בגוף, אטרזין מתפרק ומתקבל מטבוליט ראשי שלו, **diaminochlorotriazine (DACT)** שנחשב לבעל השפעה טוקסית

Komsky-Elbaz and Roth, 2016



ELSEVIER



Effect of the herbicide atrazine and its metabolite DACT on bovine sperm quality

Alisa Komsky-Elbaz^{a,b}, Zvi Roth^{a,b,*}

^a Department of Animal Sciences, Robert H. Smith Faculty of Agriculture, Food and Environment, The Hebrew University, Rehovot 76100, Israel

^b Center of Excellence in Agriculture and Environmental Health, Jerusalem, Israel



ELSEVIER

Theriogenology

Volume 140, December 2019, Pages 117–123



Effect of the herbicide atrazine and its major metabolite, DACT, on bovine sperm cryotolerance

Alisa Komsky-Elbaz^{a, b, c}, Arina Zubov^a, Zvi Roth^{a, b, c} ✉

Show more

<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.08.026>

Get rights and content

השפעה של אטריזין והמטבוליט שלו DACT על איכות תאי הזרע



פתאלטים

- כימיקלים מעשי ידי אדם הנפוצים לשימוש בעיקר בתעשיית הפלסטיק. עיקר החשיפה אליהם היא דרך המזון והשתייה.

Whang and Zhao, 2019

- ידועים כבעלי יכולת לשבש פעילות אנדוקרינית.

Grindler et al., 2018

- קיימים למעלה מ- 25 סוגי פתאלטים.

Whang and Zhao, 2019

סוגי פתאלטים נפוצים

ראשי תיבות	מטבוליט עיקרי	חומר המקור
MEP	Mono-ethyl phthalate	Diethyl phthalate (DEP)
MBP	Mono-butyl phthalate	Dibutyl phthalate (DBP)
MEHP	Mono-2-ethyl phthalate	Di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP)
MMP	Mono-methyl phthalate	Dimethyl phthalate (DMP)
MiBP	Mono-isobutyl phthalate	Diisononyl phthalate (DiNP)

נמצאו רמות של MBP ו- MEHP בדגימות שתן ופלסמה של פרות.

Kalo et al., 2015

השפעה של MEP, MBP או MEHP על תאי הזרע

• נמצא מתאם בין נוכחות של MEP ו- MEHP בשתן של בני אדם ובין פגיעה בדנ"א של תאי זרע.

Hauser et al., 2007

• נמצא מתאם בין נוכחות MEHP בשתן של בני אדם ובין עליה בחיות תאי הזרע.

Bloom et al., 2015

חשיפת תאי זרע למזהם בודד פוגעת באיכות תאי הזרע

- מורידה סיכויי הישרדות של התאים לאחר הקפאה

- פוגעת ביכולת התאים להפרות

- בפועל, לא מדובר בחשיפה למזהם אחד בלבד



האם ישנה השפעה
אדטיבית בין מספר
מזהמים על איכות
תאי הזרע



מטרת העבודה

לבחון האם קיימת השפעה אדטיבית של מספר מזהמים
סביבתיים על איכות תאי הזרע

מבנה העבודה

חלק א: חשיפה למזהמים ממקור תזונתי

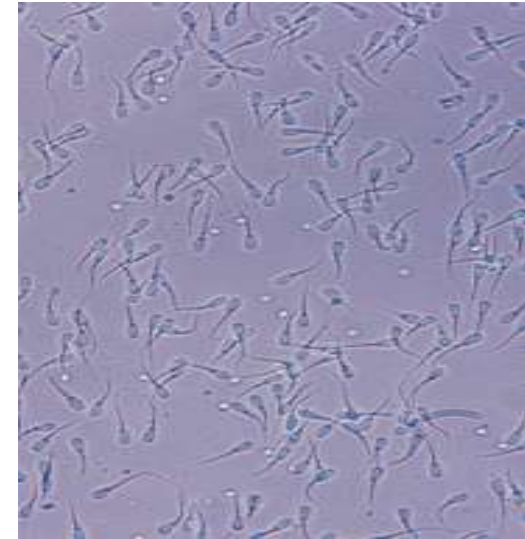
חלק ב: חשיפה למזהמים ממקור תעשייתי

מהלך העבודה - חשיפת תאי זרע למזהמים ממקור תזונתי



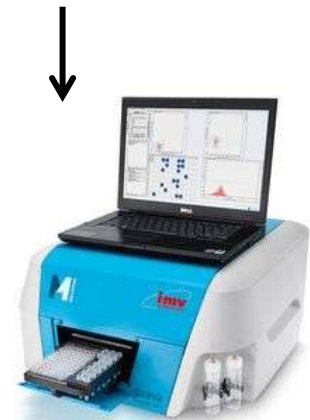
זרמה טרייה

4 שעות הדגרה (קפסיטציה)

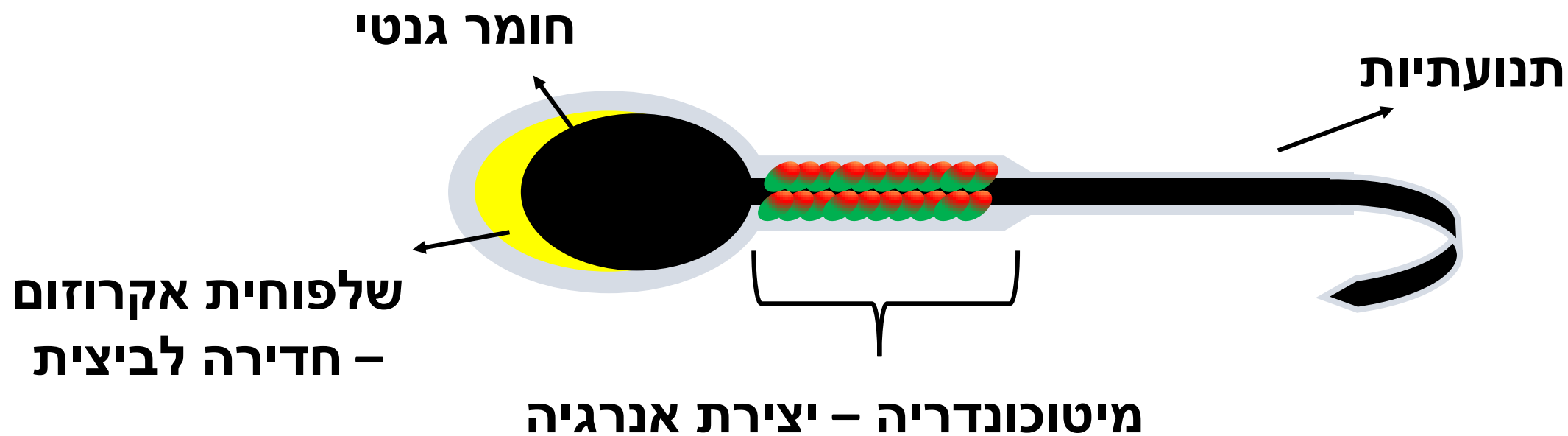


3 חזרות עם 15 אלף תאי זרע

מקור תזונתי	}	0.01 μ M ATZ
		1 μ M DACT
		1 μ M AFB1
שילובים שונים	}	ATZ+AFB1
		ATZ+DACT
		AFB1+DACT
		ATZ+DACT+AFB1

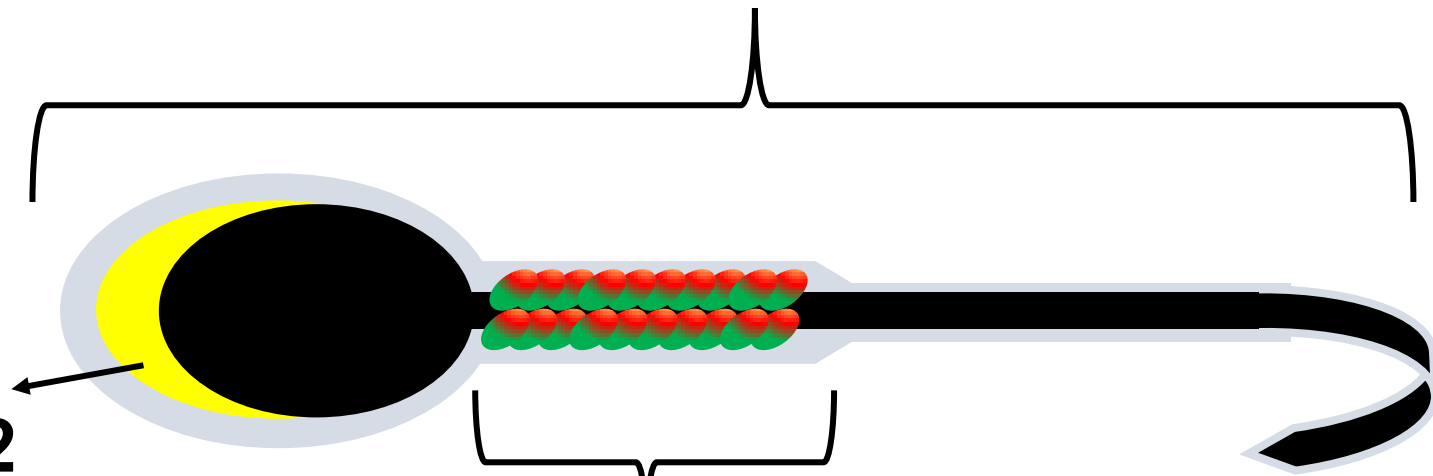


מבנה תא הזרע



מדדים לקביעת איכות תאי הזרע

1. שלמות ממברנת התא – מדד לחיות התאים

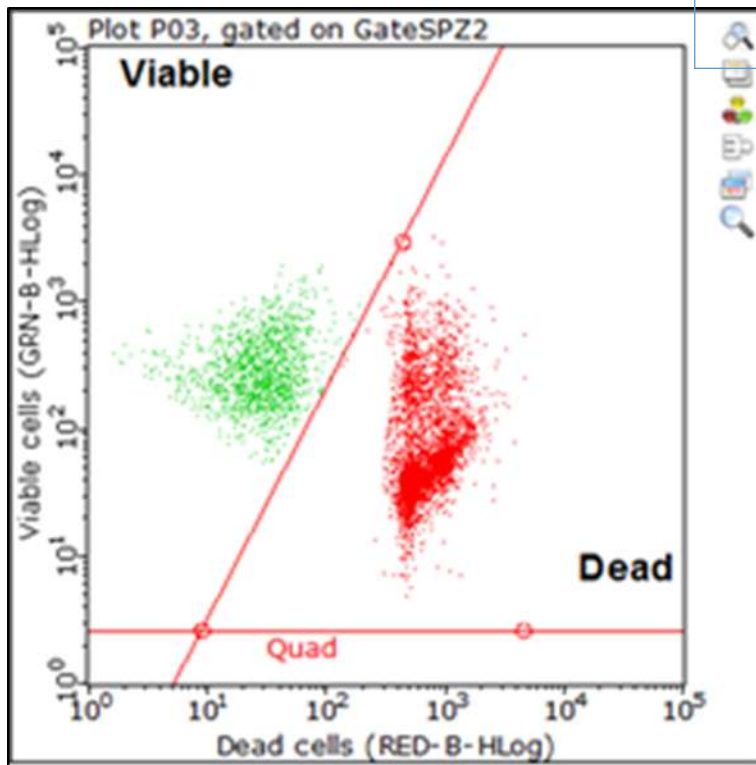


2. שלמות ממברנת האקרזום – פוטנציאל ליכולת הפריה

3. פוטנציאל ממברנת המיטוכונדריה
4. יצירה של רדיקלים חופשיים

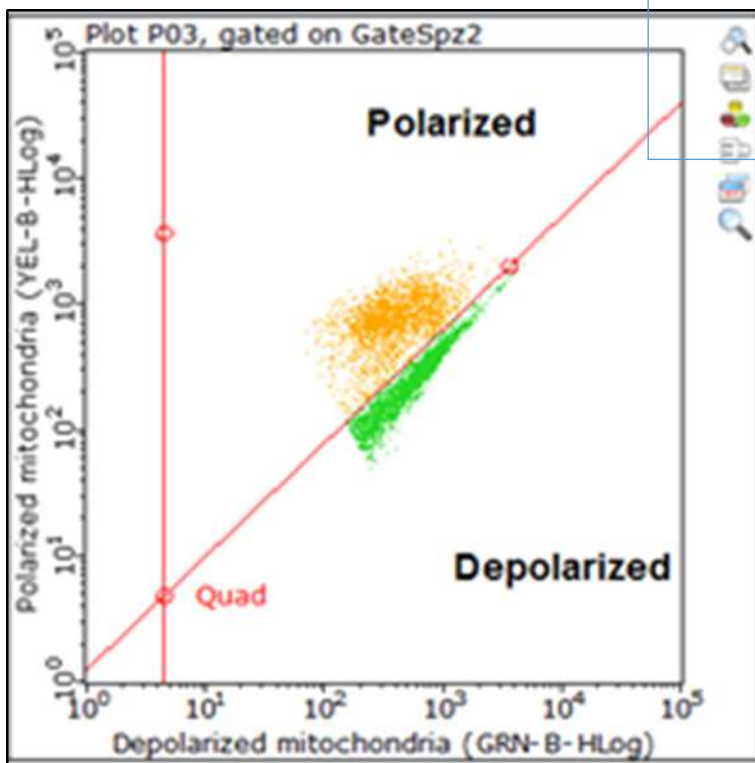
חשיפה ל- ATZ לא פגעה בחיות תאי הזרע

0.01 μM ATZ	ביקורת	תאים מתים (%)
59.5 \pm 12.8	30.3 \pm 15.2	

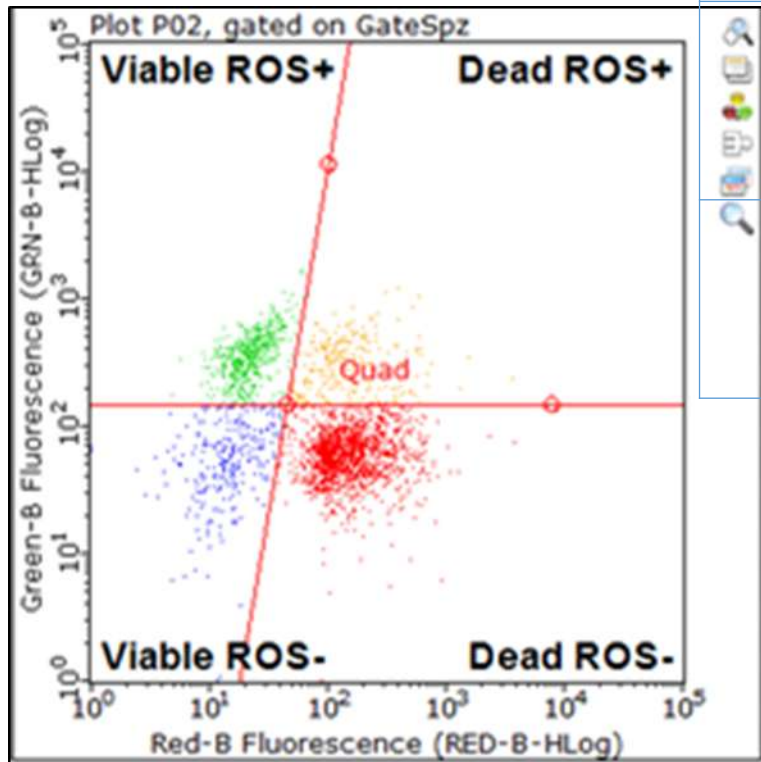


חשיפה ל- ATZ לא השפיעה על פוטנציאל ממברנת המיטוכונדריה

0.01 μ M ATZ	ביקורת	תאים מתים (%)
59.5 \pm 12.8	30.3 \pm 15.2	
3.7 \pm 1.16	2.8 \pm 0.59	פוטנציאל ממברנת המיטוכונדריה (יחס)



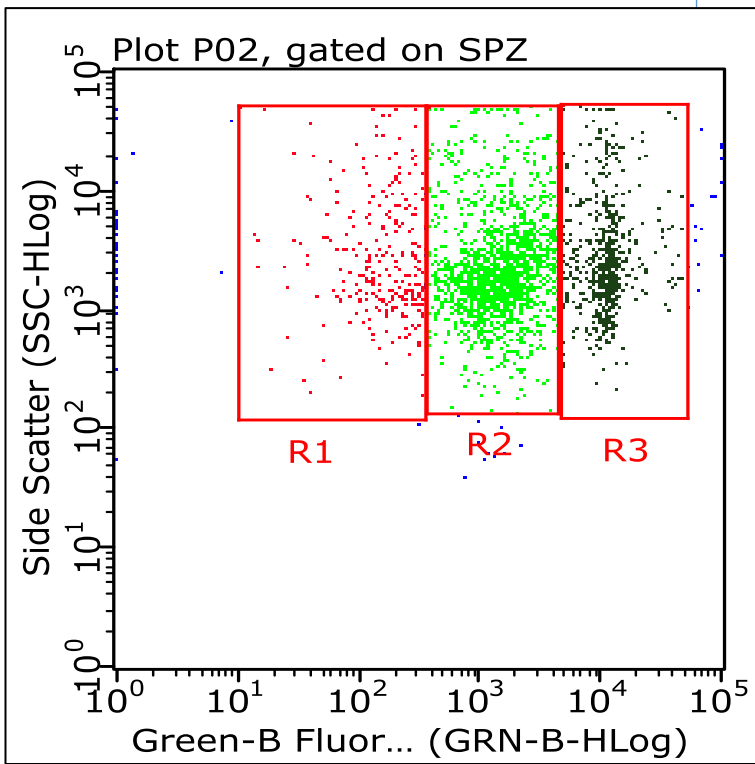
חשיפה ל- ATZ לא השפיעה על תגובת התאים לעקה כימיונית



0.01 μ M ATZ	ביקורת	
59.5 \pm 12.8	30.3 \pm 15.2	תאים מתים (%)
3.7 \pm 1.16	2.8 \pm 0.59	פוטנציאל ממברנת המיטוכונדריה (יחס)
73.3	73.5	תאים חיים המייצרים רדיקלים חופשיים (%)

חשיפה ל- ATZ בשלמות ממברנת האקרזום

0.01 μ M ATZ	ביקורת	
59.5 \pm 12.8	30.3 \pm 15.2	תאים מתים (%)
3.7 \pm 1.16	2.8 \pm 0.59	פוטנציאל ממברנת המיטוכונדריה (יחס)
73.3	73.5	תאים חיים המייצרים רדיקלים חופשיים (%)
0.04 \pm 0.02*	0.53 \pm 0.16	תאים עם ממברנת אקרזום תקינה (%)



R1 – ממברנה פגומה
R2 – אקרזום משופעל
R3 – ממברנה תקינה

* $p < 0.05$

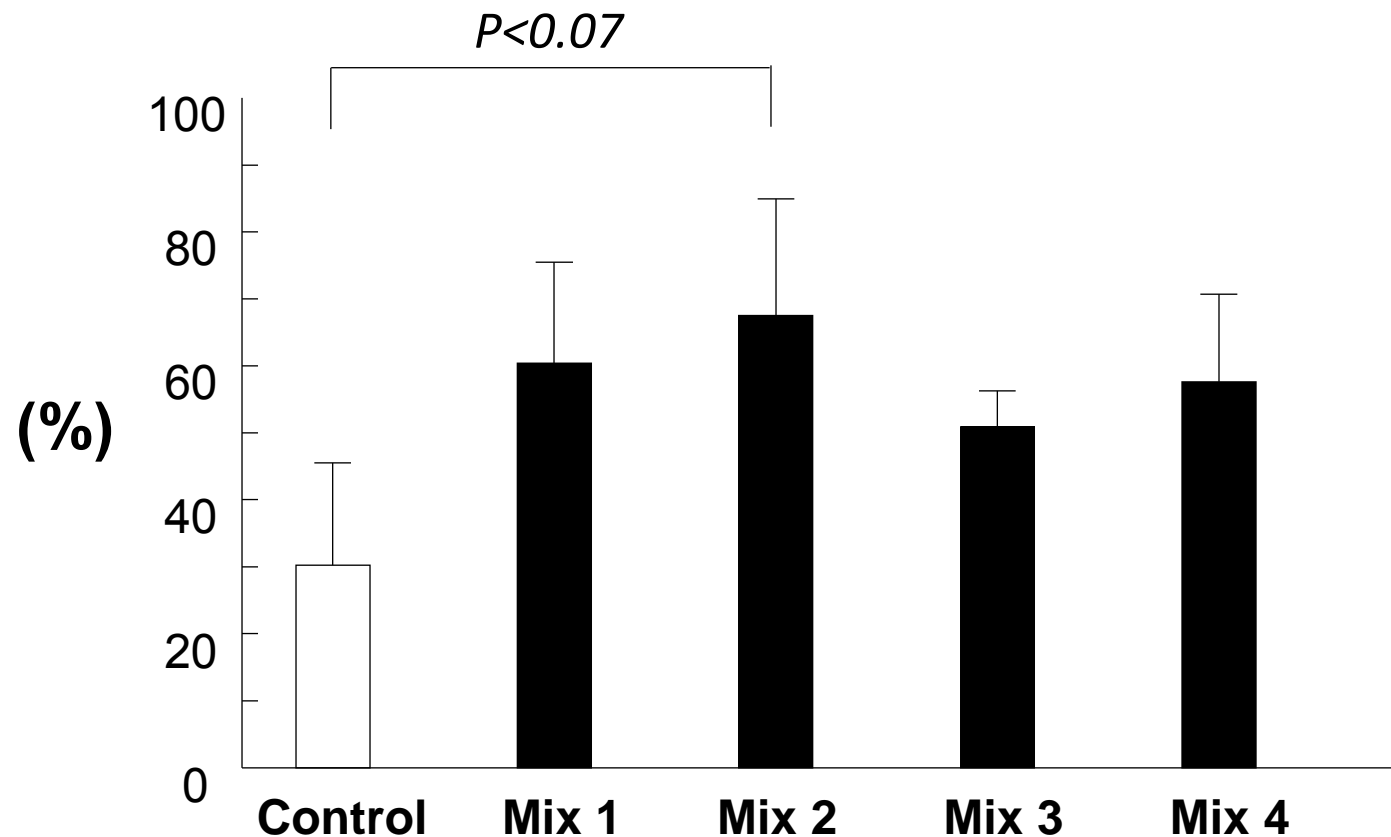
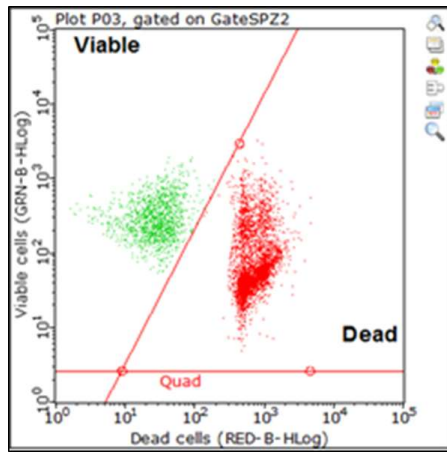
חשיפה ל- DACT או AFB1 פגעו בשלמות ממברנת האקרזום

1 μ M DACT	ביקורת	
59.2 \pm 15.3	30.3 \pm 15.2	תאים מתים (%)
3.68 \pm 1.3	2.8 \pm 0.59	פוטנציאל ממברנת המיטוכונדריה (יחס)
76.4*	73.5	תאים חיים המייצרים רדיקלים חופשיים (%)
0.06 \pm 0.02*	0.53 \pm 0.16	תאים עם ממברנת אקרזום תקינה (%)

חשיפה ל- DACT או AFB1 פגעו בשלמות ממברנת האקרזום

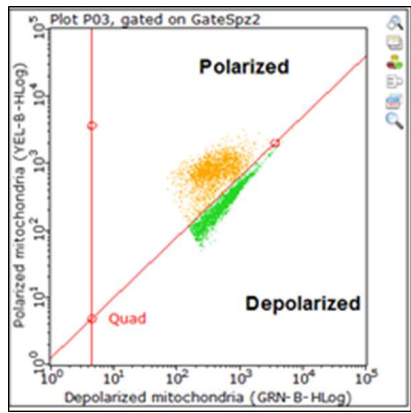
1 μ M AFB1	1 μ M DACT	ביקורת	
53.6 \pm 13.7	59.2 \pm 15.3	30.3 \pm 15.2	תאים מתים (%)
2.86 \pm 0.68	3.68 \pm 1.3	2.8 \pm 0.59	פוטנציאל ממברנת המיטוכונדריה (יחס)
72.1	76.4*	73.5	תאים חיים המייצרים רדיקלים חופשיים (%)
0.13 \pm 0.006*	0.06 \pm 0.02*	0.53 \pm 0.16	תאים עם ממברנת אקרזום תקינה (%)

חשיפה לתערובת רעלנים (Mix 2) פגעה בחיות תאי הזרע

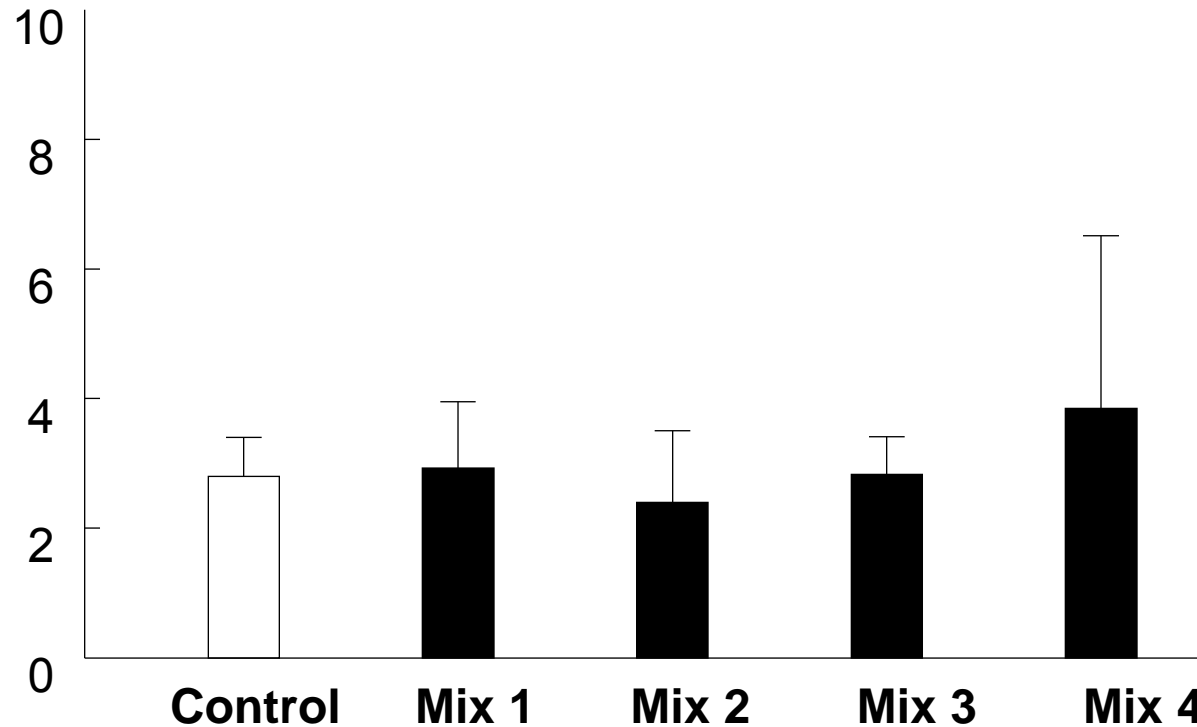


- Mix 1 – ATZ +DACT
- Mix 2 – ATZ+AFB1
- Mix 3 – ATZ+DACT+AFB1
- Mix 4 – AFB1+DACT

חשיפה לתערובות רעלנים לא השפיעה על פוטנציאל ממברנת המיטוכונדריה

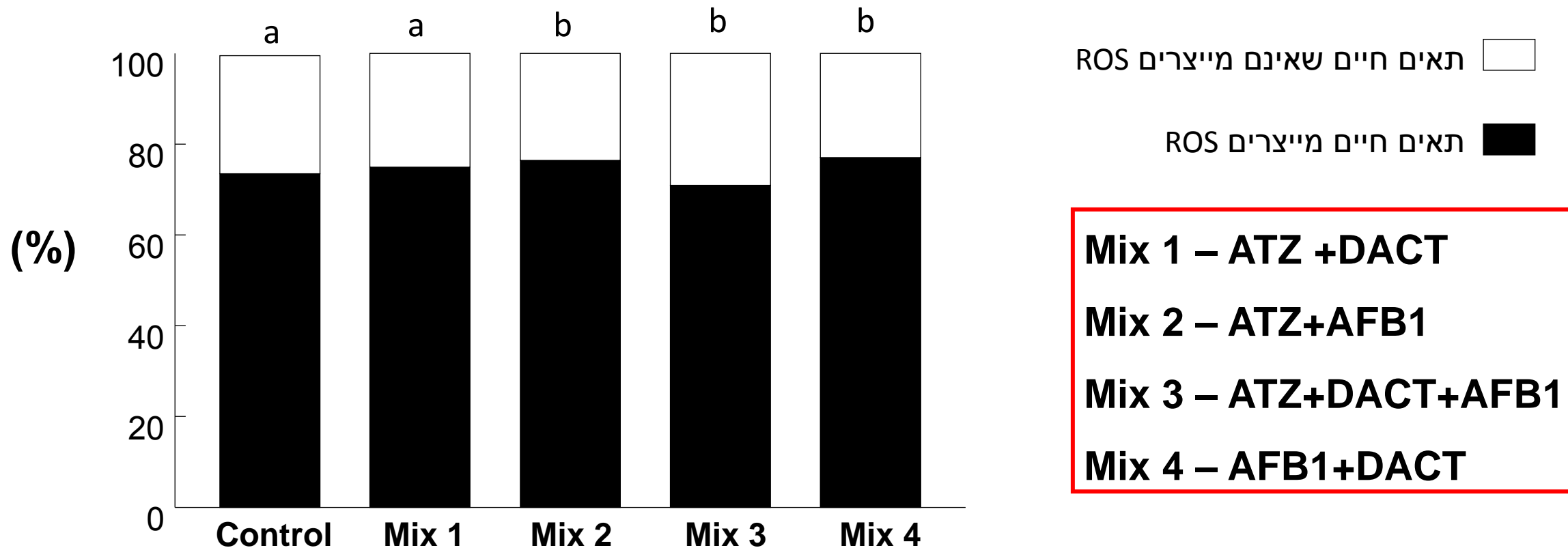
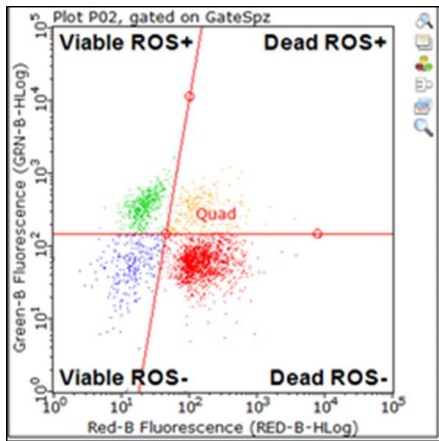


יחס פוטנציאל מיטוכונדריאלי גבוה/נמוך

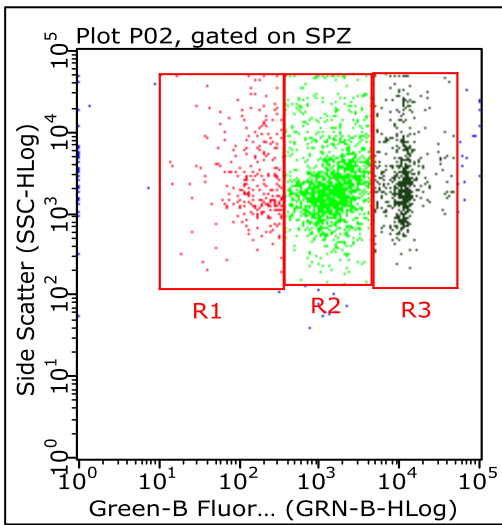


- Mix 1 – ATZ +DACT
- Mix 2 – ATZ+AFB1
- Mix 3 – ATZ+DACT+AFB1
- Mix 4 – AFB1+DACT

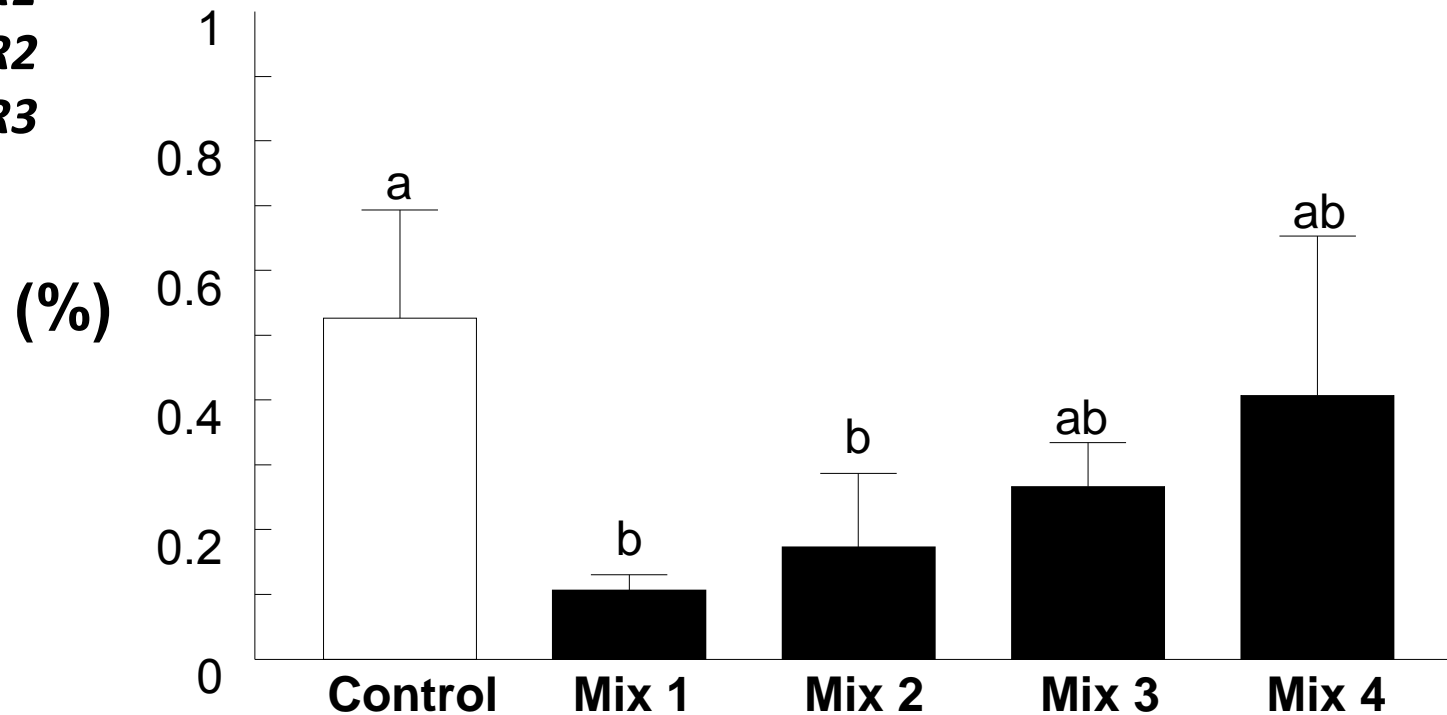
חשיפה לתערובת רעלנים (Mix 2,3,4) גרמה לשינוי בתגובת התאים לעקה חימצונית



חשיפה תערובת רעלנים (Mix 1, 2) גרמה לפגיעה בממברנת האקרזום



R1 – ממברנה פגומה
R2 – אקרזום משופעל
R3 – ממברנה תקינה



Mix 1 – ATZ +DACT
Mix 2 – ATZ+AFB1
Mix 3 – ATZ+DACT+AFB1
Mix 4 – AFB1+DACT

סיכום חלק א: חשיפה של תאי זרע למזהמים ממקור תזונתי

- חשיפה למזהם בודד לא השפיע על שיעור התאים המתים.

- **אבל** חשיפה לתערובת מזהמים שהכילה ATZ+AFB1 (**Mix 2**) העלתה את אחוז התאים המתים.

- כל אחד מהמזהמים גרם לירידה באחוז התאים בעלי ממברנת אקרזום תקינה

- בעקבות חשיפה לתערובת של מזהמים שהכילה ATZ+DACT (**Mix 1**) או ATZ+AFB1 (**Mix 2**) התקבל אפקט מוגבר.

- חשיפה ל- DACT גרמה לשינוי בתגובת התאים לעקה חמצונית

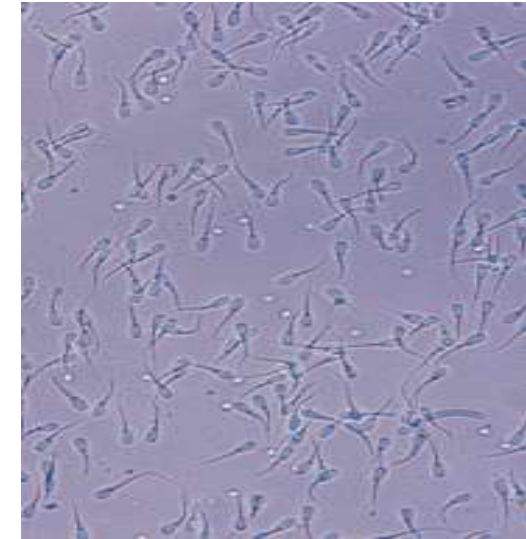
- חשיפה לתערובת מזהמים ATZ+AFB1 (**Mix 2**), ATZ+DACT+AFB1 (**Mix 3**) או AFB1+DACT (**Mix 4**) גרמה אף היא לשינוי בתגובה.

מהלך העבודה - חשיפת תאי זרע למזהמים סביבתיים ממקור תעשייתי



זרמה טרייה

4 שעות הדגרה (קפסיטציה)



3 חזרות עם 15 אלף תאי זרע סה"כ.

כימיקלים מהתעשייה	{	20 nM MEHP
		50 nM MBP
		50 nM MEP
מיקסים שונים	{	MEP+MBP
		MEP+MEHP
		MBP+MEHP
		MEP+MBP+MEHP



חשיפה למזהם בודד או לשילוב של מספר מזהמים לא השפיעה על שיעור התאים החיים ולא על פוטנציאל ממברנת המיטוכונדריה

Mix 4	Mix 3	Mix 2	Mix 1	50 nM MBP	50 nM MEP	20 nM MEHP	ביקורת	תאים מתים (%)
73.8 ± 1.1	72.1 ± 7.6	72.3 ± 2.1	72.2 ± 5.6	84.1 ± 8.2	71.6 ± 6.9	74.1 ± 7.6	72.9 ± 4.6	
3.1 ± 0.4	5.8 ± 3.1	4.8 ± 0.2	5.6 ± 1.7	3.5 ± 0.3	4.6 ± 0.2	3.4 ± 0.6	4.6 ± 0.9	פוטנציאל ממברנת המיטוכונדריה (יחס)

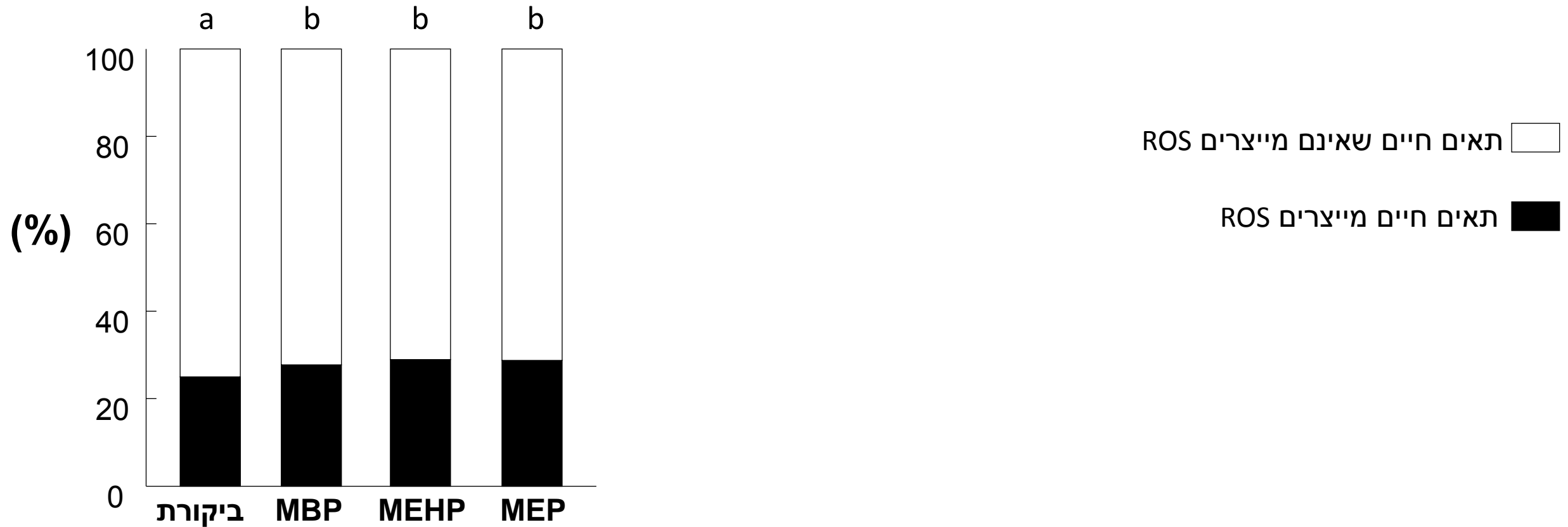
Mix 1 – MEP+MBP

Mix 2 – MEP+MEHP

Mix 3 – MBP+MEHP

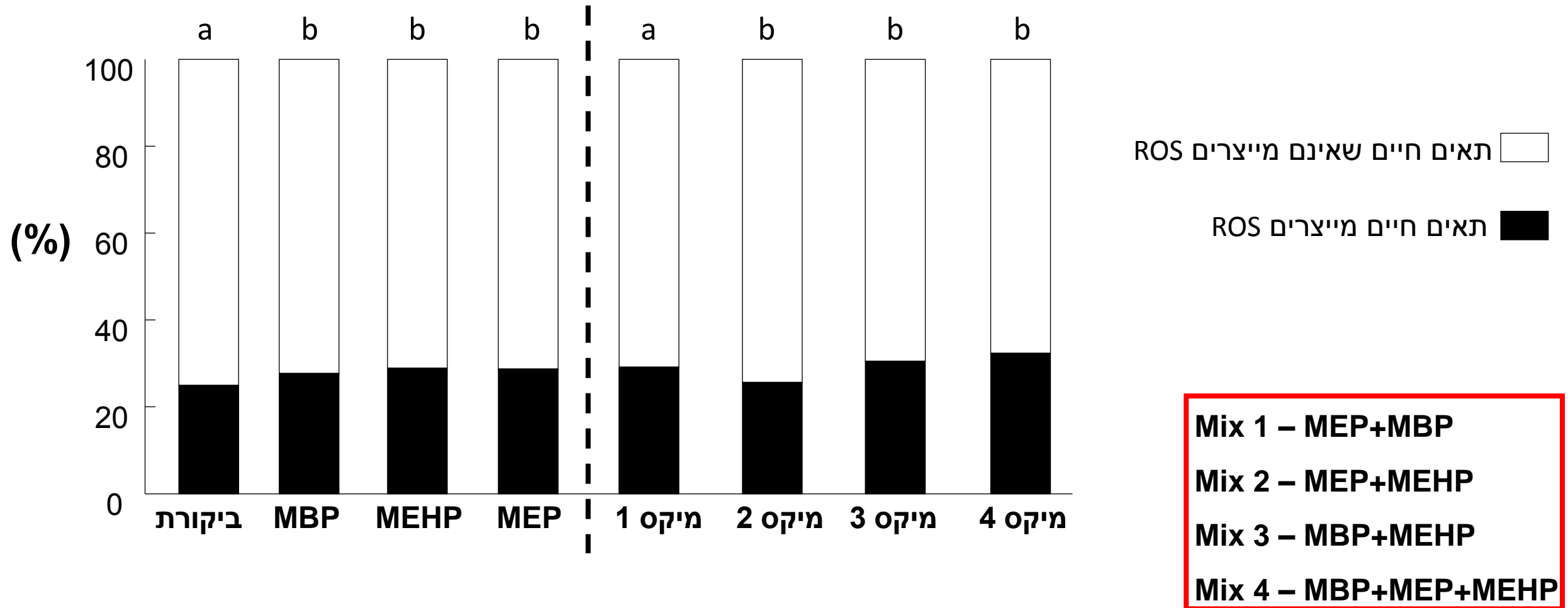
Mix 4 – MBP+MEP+MEHP

חשיפה למזהמים ממקור תעשייתי, מזהם בודד או לשילוב של מספר מזהמים, גרמה לשינוי בתגובת התאים לעקה חימצונית



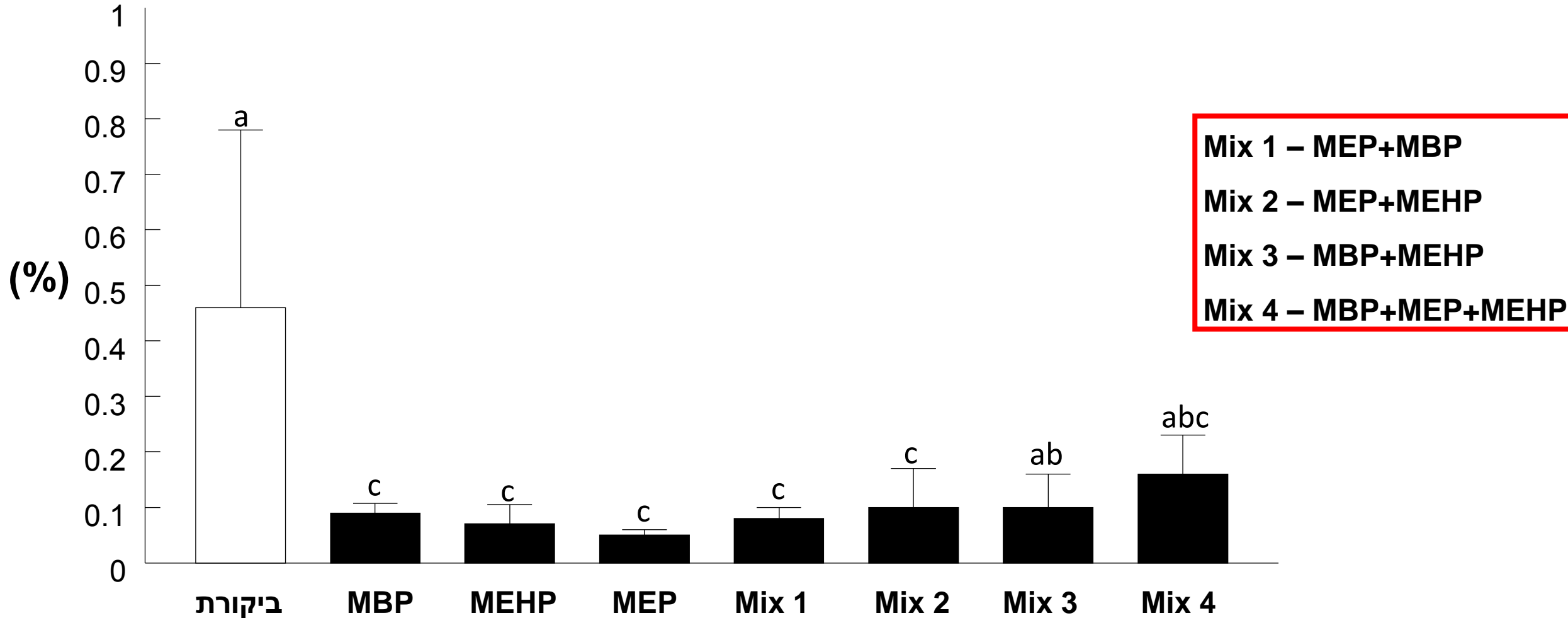
חשיפה למזהמים ממקור תעשייתי, מזהם בודד או לשילוב של

מספר מזהמים, גרמה לשינוי בתגובת התאים לעקה חימצונית



חשיפה למזהם בודד או לשילוב של מספר מזהמים

גרמה לפגיעה במברנת האקרוזום



סיכום חלק ב: חשיפה של תאי זרע למזהמים ממקור תעשייתי

- לא נמצאה השפעה של מזהם בודד או תערובת של מספר מזהמים הן על שיעור התאים החיים והן על פוטנציאל ממברנת המיטוכונדריה.
- חשיפת תאי הזרע למזהם בודד או לתערובת של מספר מזהמים (MEP+MBP, MEP+MEHP או MBP+MEHP) גרמה לשינוי בתגובת התאים לעקה חמצונית.
- מזהם בודד כמו גם תערובת של מספר מזהמים (MEP+MBP, MEP+MEHP) גרמו לירידה באחוז התאים בעלי ממברנת אקרוזום תקינה.

מסקנות

- הגישה המתוארת בעבודה זו היא חדשנית ביותר, היות ואינה מתייחסת למזהם בודד אלא, למגוון מזהמים.
- עבודה זו מציגה לראשונה את האפשרות להשפעה אדטיבית בין מספר מזהמים סביבתיים. נתון חשוב אשר חסר בספרות.
- אנו צופים כי גישה זו תאפשר התמודדות עם המצאות מזהמים שונים במזון במקרים בהם כל אחד עומד בתקן ה"מותר", אך ביחד עלולים להוות סכנה לבריאות ופוריות בע"ח בכלל ושל פרים בפרט.



פרופ' צבי רוט

אליסה קומסקי-אלבז

שירה יעקבי-ארצי

רותם ויינברגר

עומר כהנשטם

דן רכס

מוטי סקציאר

פז מנדלסון

רון שרון

נעמה סרבניק



דר' יואל זרון

טניה קוגן

רונית לאור

תודה רבה!!!

נקי
ממזהמים?



HU-CEAHEH - המרכז למצוינות בחקלאות



ובריאות הסביבה

ASRC - המרכז לחקר תאי זרע בבעלי חיים