

זיהוי מוקדם של הסיכוי לפתח מחלות דרכי נשימה (BRD) בבקר

מגיש : אריאל שבתאי

מבוא

קומפלקס מחלות דרכי הנשימה בבקר, המכונה בשם כללי (Bovine Respiratory Disease; BRD) נוגרם פעמים רבות עקב שינויים חריפים בממשק הבקר ובעקבות העברתו ממקומו (Shipping fever), גורם לשני שלישים ממקרי התחלואה ולכ- 10% ממקרי התמותה של בני בקר (בר גיא, Wiske, 1985; 1998). BRD הינה מחלה בעלת אטיולוגיה רב-גורמית (פיסיקלית, ביולוגית, כימית ופסיכולוגית, לחוד או בסינרגיזם), המאופיינת בשינוי תלוי-עקה ברגישות של דרכי הנשימה לפתוגנים וירליים וחיידקיים, אשר בנסיבות רגילות מאכלסים את מערכת הנשימה העליונה בעגל (Roth and Perino, 1998) אך אינם מסכנים אותו. הפתוגנים הללו משגשים בחלקה התחתון של מערכת הנשימה תוך ניצול מצב העקה שמצויה בו מערכת החיסון (Muggli-Cockett et al., 1992; Roth and Perino, 1998), כתוצאה מגמילה ו/או טרנספורט, ערבוב קבוצות, שונות גיל בחצר הגידול, גורמי אקלים, גזים ואבק באוויר ועוד. מהות הנזק הפיסיולוגי של המחלה הוא בגרימת הדבקויות של קרומי הריאה, מה שמוליך לסתימה חלקית או מוחלטת של נאדיות הריאה ודרכי האוויר המובילים אליה. הפגיעה בפונקציונאלית של הריאה והשלכותיה על המטבוליזם, כמו גם הפגיעה בתיאבון של העגלים גוררות ירידה ניכרת ביצרנות. זאת, בתוספת להוצאות הטיפול במחלה מסבים למגדלים הפסדים שנתיים כבדים. ואכן, ההפסדים הכלכליים השנתיים הנגרמים בשל תמותה או תחלואה – BRD נאמדים בארה"ב ב- 600-700 מיליון דולר. בישראל מתווסף הנזק של פגיעה ברמת הכשרות של הבקר, והפסדים שנתיים של כ- 23 מיליון ₪ למגדלים. כיום, האמצעים להערכה מוקדמת של רגישות העגלים לתחלואה לא קיימים כלל והזיהוי של המחלה בשלביה המוקדמים הם סובייקטיביים ומערבים הערכה ויזואלית הנתמכת במדידות קליניות מועטות. זיהוי התחלואה בשלב התפרצות המחלה, מאפשר לרוב לרפא את בעל החיים ולמזער את הנזקים הפיסיולוגיים והבריאותיים אך הנזקים הכלכליים הנלווים המצטברים עדיין גדולים מאוד. בדיקות היסטופתולוגיות (סירכות) בטבחות עגלי פיטום מצביעות על ליקויים ריאתיים ב- 37-68% מהעגלים שלא אובחנו וטופלו בחייהם (Gardner et al., 1999; Wittum et al., 1996). משמעות הדבר היא שליקויים ריאתיים קורים גם אם לא נצפתה דלקת ריאות.

עובדות אלה מצביעות, ללא ספק, על הצורך בזיהוי אובייקטיבי מוקדם של הסיכון של בעל חיים לחלות ב- BRD, כדי לאפשר טיפול מונע יעיל שימנע את הנזקים הכרוכים במחלה. במהלך שלוש העשורים האחרונים הולכות ומצטברות ראיות הקושרות, נסיבתית, בין התפתחות BRD ועקה חמצונית (Hays et al., 1978; Hutcheston and Cole, 1985; Chirase et al., 2004). בהתבסס על התוצאות הנ"ל, קיים ניסיון בשנתיים האחרונות להערכת הקשר בין גורמים המאיצים

BRD וסמנים ביולוגיים אנדוגניים לעקה חמצונית. מאחר ועקה חמצונית במתכונת של סמנים ביולוגיים אנדוגניים היא פועל יוצא של מגוון רחב של עקות, נדרש, לעניות דעתנו, סמן בעל "טביעת אצבע" ספציפית לסוג העקה. סמנים אקסוגניים שכאלה, רגישים ל-RNS/ROS, פותחו זה מכבר ע"י פרופסור יעקב ויה במיג"ל. הסמנים בנויים מיחידות אנדוגניות כמו חומצה אמינית טירוזין (לזיהוי פגיעה בחלבון) המחוברת לחומצה לינולאית (לזיהוי פגיעה בליפידים) ואלה קשורות במידת הצורך ליחידה שלישית כמו גואנוזין (לזיהוי פגיעה ב-DNA) או כולסטרול (זיהוי פגיעה בסטרולים), כאשר כל היחידות הללו מחוברות בקשר קוולנטי זו לזו. הדגרה של אחד הסמנים הללו עם דוגמה ביולוגית (דם, רקמה, תאים, רוק) המצויה במצב של עקה חמצונית תגרום לפגיעות בסמן ושינויים במבנה שלו (חמצונים שונים בכל אחד ממרכיביו) בהתאם לסוג העקה המצויה במערכת הנבדקת. כתוצאה מכך עשויה להיות קורלציה בין סוג העקה הקיימת במערכת לבין סוג הפגיעה בסמן, או בין סוג המצב הפתולוגי המתפתח בייצור ממנו לקוחה הדוגמה לבין סוג השינוי שחל בסמן, ובאופן כזה קבלת טביעת אצבע של המחלה בסמן. בדו"ח הקודם דווחנו על הקורלציה החזקה שבין תוצרי החמצון של הסמן LT 7 ימים לאחר העברת עגלים צעירים ממקומם וסטטוס הכשרות שנקבע בבית המטבחים כשנה לאחר מכן. בשנה הנוכחית בדקנו סמני עקה המגיבים בטווח זמן קצר יותר, ממספר שעות לאחר ההעברה ועד יום לאחריה. הסמנים בהם השתמשנו היו חלבוני עקת חום וההורמון קורטיזול.

מטרת המחקר: פיתוח אמצעי לזיהוי אובייקטיבי וספציפי מוקדם של הסיכון לחלות ב-BRD, כדי לאפשר טיפול מונע יעיל להקטנת התחלואה ולשיפור רמת הכשרות והיצרנות של עגלי בקר לבשר.

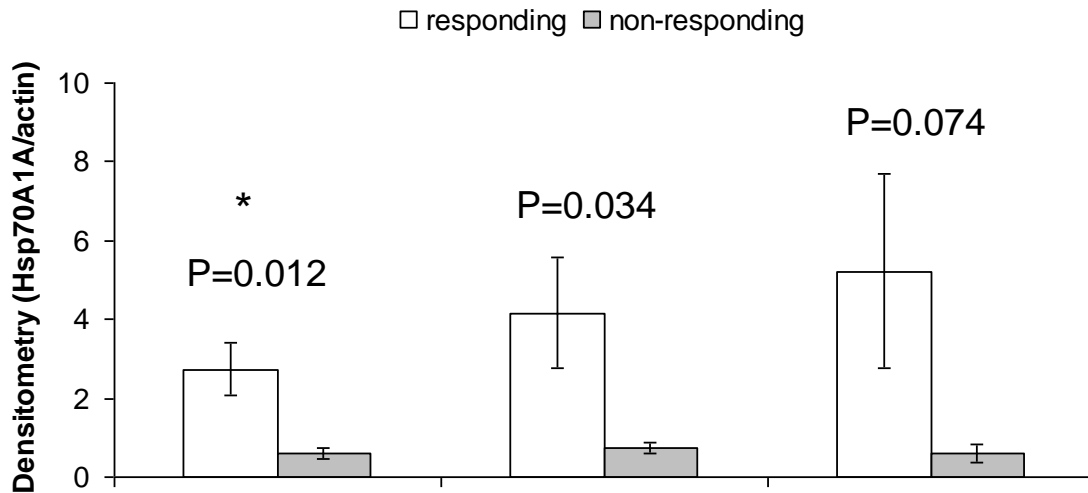
שיטות וחומרים

12 עגלי הולשטיין, בני 7-14 ימים, הועברו לאחר המלטה ברפת בית דגן ליונקיה בנוה יער. העגלים טופלו במשך 5 הימים הראשונים להגעתם ב-Pen-Strep. מיום הגעתם ועד גיל 60 יום העגלים ניזונו בעיקר בתחליף חלב (125 ג ל ליטר, Top 440, קופולק), במשטר הזנה אינטראקטיבי, אך הייתה להם גישה חופשית גם לבליל יונקים. דם נלקח מכל העגלים שלושה ימים לפני העברתם (ברפת בבית דגן) וכן שעה, 5 שעות ויום לאחר הגעתם ליונקיה בנוה יער. הדם סורכז, התאים הלבנים הופרדו מהפלסמה ונוקו משאריות של תאים אדומים. התאים הלבנים שמשו להפקת RNA. מה RNA יצרנו cDNA ובעזרת פריימרים ספציפיים הגברנו את הגנים Hsp60 ו Hsp70A1A. הפלסמה שמשו למדידת ריכוזי הורמון העקה קורטיזול בזמנים שהוזכרו.

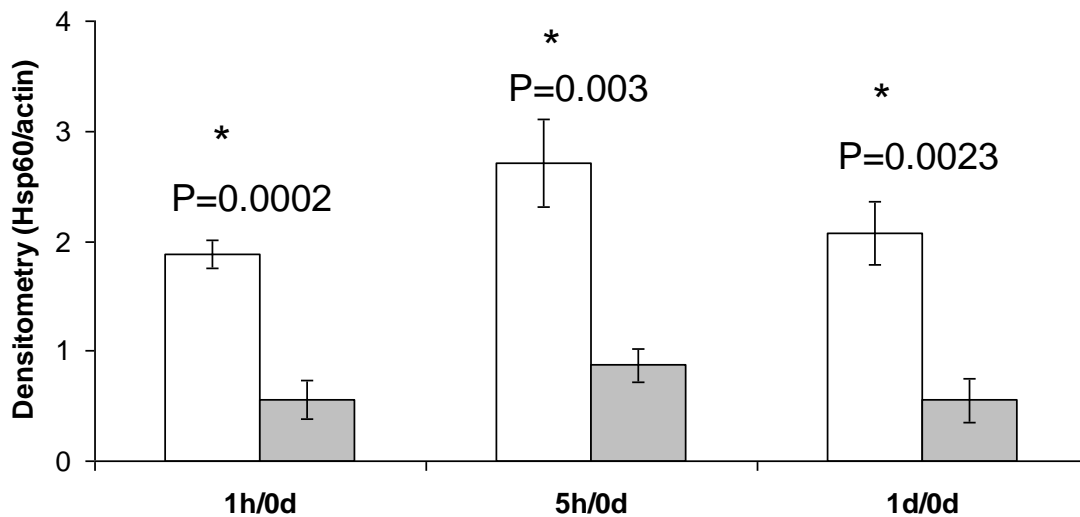
תוצאות

רמות הביטוי של חלבוני העקה Hsp60 ו Hsp70A1A מופיעות באיור 1. על בסיס התוצאות ניתן לקבוע כי רק חלק מהעגלים מגיבים לעקת העברה ע"י הגברת הביטוי של חלבוני עקת החום, חלבוני שידוע כי ריכוזם בתא עולה בעקבות גורמי עקה.

Hsp70A1A

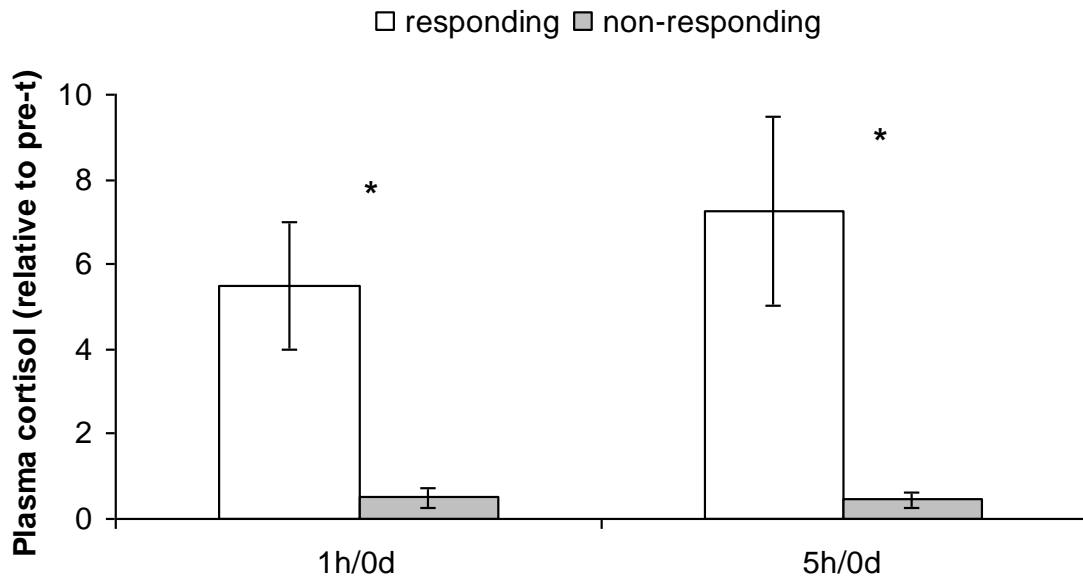


Hsp60



איור 1: שונות ברמת הביטוי של חלבוני עקת חום בעגלי הולשטיין צעירים, בעקבות העברתם מרפת בית דגן ליונקיה בנוה יער. ערכי ה P מעל העמודות מציינים הבדלים בין עגלים בעלי תגובת עקה לעגלים חסרי תגובת עקת העברה.

בדומה לתוצאות של חלבוני עקת החום, מיון העגלים למגיבים ולשאנים מגיבים לעקת העברה ניתן להיעשות גם על פי רמת הקורטיזול בפלסמה, כפי מתואר באיור 2.



איור 2: שונות בין עגלי הולשטיין צעירים ברמות הורמון העקה קורטיזול בפלסמה. כוכבית מציינת הבדלים מובהקים, לאחר תיקון בונפרוני, בין עגלים מגיבים לעגלים לא מגיבים.

דיון ומסקנות

עקה מפרה את ההומאוסטזיס של בעלי חיים ע"י השריה של שינויים בפעילות של צירי ה HPA וה SA. עקב כך ההפרשה המוגברת של הורמוני העקה ממשפחות הקטכולאמינים והגלוקוקורטיקואידים, למרות שהם חיוניים להישרדות, משפעלת את הציר עקה-חיסונית אשר יכול להעלות את הרגישות לתחלואה. מקובל לקשור אירועי עקה עם התפתחות של BRD בבקר. אנו סבורים כי המפתח להורדת שיעור ה BRD נעוץ בהורדת התגובה לעקה. בחרנו לבדוק האם ניתן לקטלג עגלים לבעלי או חסרי תגובה לעקה באמצעות חלבונים והורמון שנחשבים כמתווכים במערכת זאת. Hsp60 ו Hsp70A1A נבחרו משום שידוע כיום כי כאשר הם מופרשים מהתאים הם משמשים כ"אות סכנה" למערכת החיסון. השינוי ברמת הביטוי של חלבוני עקת חום תועד בהקשר של מגוון רחב של מחלות, וביניהן fever, inflammation, infection, trauma. לאור זאת צריך להמשיך ולברר אם בהקשר למחלות נשימה קליניות ותת-קליניות בעגלים, התגובה לעקה בתווך הביטוי המוגבר של חלבונים אלו מהווה מגננה או סכנה. בשלב ראשון יש לברר האם קיים מתאם בין הביטוי התוך תאי של חלבונים אלו (כפי שדווח בדו"ח הנוכחי) לביטוי החוץ-תאי שלהם, ואם כן, האם הפרשה מוגברת של חלבוני עקת חום אל הפלסמה מעוררת תגובות דלקתיות מקומיות כפי שדווח במספר מחקרים. ממצא שכזה יכול להסביר את הפרופורציה הגבוהה של עגלים שלא אובחנו כחולים בדלקת ריאות במהלך גידולם אך נתגלו כטרפים בבית המטבחים.

אורי בר גיא (1998). מחלות בקר בישראל – היבטים קליניים, משקיים, כלכליים ומניעתם. הוצאת אקדמון, מהדורה שנייה.

- Blecha, F., Boyles, S. L. and Riley, J. G.** (1984). Shipping suppresses lymphocyte blastogenic responses in Angus and Brahman Angus feeder calves. *J. Anim. Sci.* **59**(3): 576–583
- Chakrabarti, S. and Patel, K. D.** (2005). Regulation of matrix metalloproteinase-9 release from IL-8-stimulated human neutrophils. *J. Leukoc. Biol.* **78**(1): 279–288.
- Chirase, N. K., Greene, L. W., Purdy, C. W., Loan, R. W., Auvermann, B. W., Parker, D. B., Walborg, E. F. Jr, Stevenson, D. E., Xu, Y. and Klaunig, J. E.** (2004). Effect of transport stress on respiratory disease, serum antioxidant status, and serum concentrations of lipid peroxidation biomarkers in beef cattle. *Am. J. Vet. Res.* **65**(6): 860-864.
- Gardner, B. A., Dolezal, H. G., Bryant, L. K., Owens, F. N. and Smith, R. A.** (1999). Health of finishing steers: Effects on performance, carcass traits and meat tenderness. *J. Anim. Sci.* **77**: 3168-3175.
- Gupta, S., Earley, B. and Crowe, M. A.** (2007). Effect of 12-h road transportation on physiological, immunological, and haematological parameters in bulls housed at different space allowances. *Vet. J.* **173**: 605-616.
- Hays, V. S., Gill, D. R., Smith, R. A. and Ball, R. L.** (1978). The effect of vitamin E supplementation on performance of newly received stocker cattle. *Oklahoma state University Anim. Sci. Res. Report* MP-199: 198-201.
- Muggli-Cockett, N. E., Cundiff, L. V. and Gregory, K. E.** (1992). Genetic analysis of bovine respiratory disease in beef calves during the first year of life. *J. Anim. Sci.* **70**: 2013-2019.
- Murata, H., Takahashi, H. and Matsumoto, H.** (1987). The effects of road transportation on peripheral blood lymphocyte subpopulations, lymphocyte blastogenesis and neutrophil function in calves. *Br. Vet. J.* **143**: 166–174.
- Roth, J. A. and Perino, L. J.** (1998). Immunology and prevention of infection in feedlot cattle. *Clin. North America: Food Anim. Prac* **14**(2): 233-255.
- Wiske, S. E.** (1985). Feedlot cattle pneumonias (Symposium on Bovine Respiratory Disease). *Vet. Clin. North America: Food Anim. Prac.* **1**(2): 289-310.

Wittum, T. E., Woolen, N. E., Perino, L. J. and Littledike, E. T. (1996). Relationship among treatment for respiratory tract disease, pulmonary lesions evident at slaughter, and rate of weight gain in feedlot cattle. *JAVMA* **209**: 814-818.

Yagi, Y., Shiono, H., Chikayama, Y., Ohnuma, A., Nakamura, I. and Yayou, K.-I. (2004). Transportation stress increases somatic cell counts in milk, and enhances the migration capacity of peripheral blood neutrophils of dairy cows. *Clin. Pathol.* **66**(4): 381–387.