

השפעת שומן החלב על ההתפתחות והתכונות המכאניות של העצם בחולדות צעירות

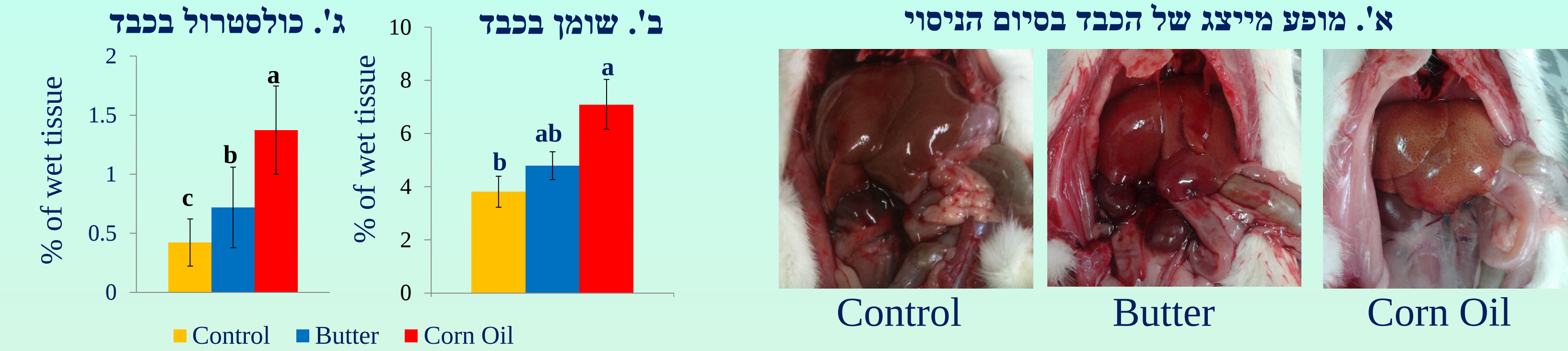
סרגיי אנפילוב^{1,2}, ז'אנה זרצקי¹, סוטה פן¹, אפרת מונסונגו-אורנן¹ ורון שחר².

¹המכון לביוכימיה, מדעי המזון והתזונה, ²ביה"ס לרפואה וטרינרית ע"ש קורט, הפקולטה לחקלאות, מזון וסביבה ע"ש רוברט ה. סמית, האוניברסיטה העברית בירושלים

התפתחות העצם הינה שילוב של שני תהליכים: 1. התארכות העצם המתרחשת בלוחיות הגדילה. 2. הבנייה ההיקפית המתרחשת תוך כדי פירוק העצם מצידה הפנימי ובנייתה מצידה החיצוני. התפתחות השלד מושפעת מהמטען הגנטי ומגורמים אפיגנטיים, כמו פעילות גופנית ותזונה. מחקרים מראים כי השפעתם של גורמים אפיגנטיים אלו בשלב גדילת השלד מבוטאת גם בבגרות. לכן, תקופת הילדות הינה חלון הזדמנויות בו ניתן להשפיע על בריאות השלד למשך כל החיים. בעוד שמחקרים רבים הראו שתת-תזונה פוגעת בהתפתחות השלד, השפעתה של השמנה דיאטטית בשלב הגדילה עדיין איננה ברורה. שאלה זו חשובה במיוחד לאור הבעיה הגלובלית הגוברת של עודף משקל והשמנה בילדים, הנפרסת על פני כ-40% מהילדים בצפון אמריקה והמזרח התיכון. בעבודה זו נבדקה השפעת צריכה מוגברת של שומן (20% w/w) ממקורות שונים על הגדילה האורכית ואיכות העצם. לצורך כך חולדות צעירות הוזנו בדיאטה עשירה בשומן החלב, העשיר בחומצות שומן רוויות, או דיאטה עשירה בשמן תירס, העשיר בחומצות שומן רב-בלתי רוויות. קבוצת הביקורת הוזנה בדיאטה רגילה.

ההיפותזה: השמנה הנובעת מצריכה מוגברת של שומן ממקורות שונים בחולדות צעירות משפיעה על גדילה ואיכות העצם, באופן התלוי באיכות השומן בדיאטה.

2. הפרה של מטבוליזם השומן התקין בכבד תלויה בסוג השומן העודף בדיאטה



דיאטה עשירה בשמן תירס גרמה להצטברות שומן בכבד, המתבטאת בצבע כבד בהיר (א'). מופע זה התקיים במידה פחותה יותר בקבוצת החמאה. אנליות Folch לקביעת אחוז השומן בכבד אימתה תוצאות אלו (ב'). הצטברות הכולסטרול בכבד תאמה את הצטברות השומן (ג').

ד'. פרופיל חומצות השומן בכבד (נגזרות מתיל-אסטריות)

Fatty acid (mg/g tissue ±SD)	Control	Butter	Corn Oil
16:0 Palmitic acid	6.151 [®] ± 0.43	8.624 [®] ± 0.474	10.216 [®] ± 1.441
18:1 Oleic acid (n-9)	2.715 [°] ± 1.286	11.009 [®] ± 1.902	16.252 [®] ± 1.866
18:2 Linoleic acid (n-6)	6.819 [®] ± 1.55	2.084 [°] ± 0.33	20.191 [®] ± 1.562
18:3 α-Linolenic acid (n-3)	0.183 [®] ± 0.097	0.046 [®] ± 0.009	0.117 [°] ± 0.008
20:4 Arachidonic acid	8.239 ± 1.458	8.543 ± 2.383	8.543 ± 2.383
20:5 EPA (n-3)	0.067 [°] ± 0.015	0.045 [®] ± 0.010	0.021 [°] ± 0.004
22:6 DHA (n-3)	2.528 [®] ± 0.565	2.141 [°] ± 0.417	1.069 [®] ± 0.44

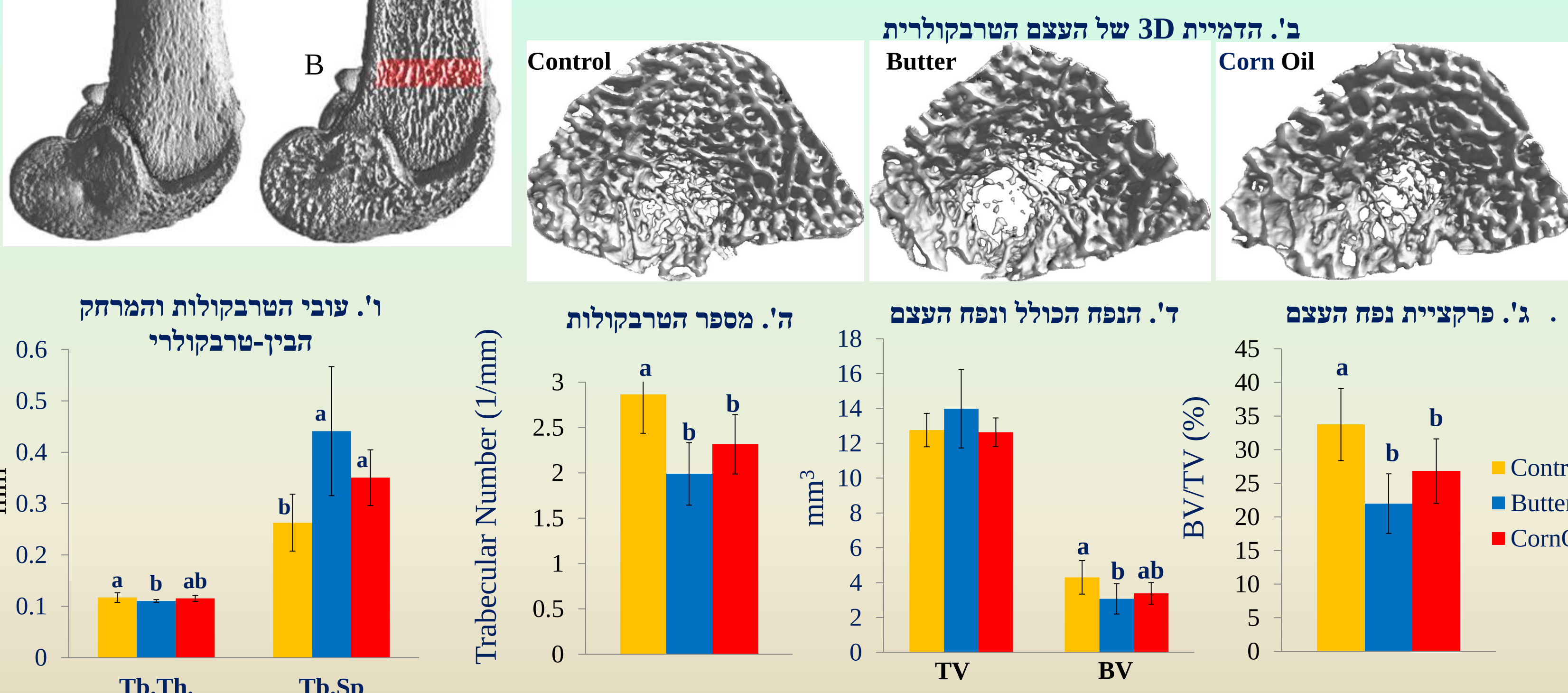
FA type (mg/g of tissue)	Control	Butter	Corn Oil
Total n-3	2,778 [®] ± 0,463	2,314 [®] ± 0,338	1,408 [®] ± 0,489
Total n-6	15,453 [®] ± 0,196	12,129 [°] ± 1,1	30,127 [®] ± 1,326
Total SFA	15,462 [®] ± 1,03	18,04 [®] ± 0,539	17,63 [®] ± 1,012
Total MUFA	3,756 [°] ± 1,45	13,582 [®] ± 1,627	18,471 [®] ± 2,009
Total PUFA	18,230 [®] ± 0,317	14,443 [®] ± 1,436	31,536 [®] ± 1,614

ה'. פרופיל ביוכימי של הסרום: יחס הפוך בין תמונת הכולסטרול והשומן בסרום ובכבד

	Control (n=10)	Butter (n=10)	Corn Oil (n=9)
Alkaline Phosphatase ± SD (U/L)	44.9 ± 15.02	56.70 ± 12.73	66.27 ± 24.17
Alanine Transaminase ± SD (U/L)	36.17 ± 18.69	23.51 ± 9.08	29.23 ± 11.13
Aspartate Transaminase ± SD (U/L)	103.18 ± 86.42	111.59 ± 70.6	156.84 ± 147.14
Calcium ± SD (mg/dl)	8.06 ± 1.97	8.35 ± 2.07	8.29 ± 1.36
Cholesterol ± SD (mg/dl)	90.84 [®] ± 27.45	73.23 ^{ab} ± 22.05	52.60 [®] ± 11.08
GGT2 ± SD (U/L)	2.51 ± 4.01	2.42 ± 2.41	1.90 ± 2.55
Glucose ± SD (mg/dl)	102.57 ± 32.51	97.63 ± 25.62	94.52 ± 29.94
Phosphate ± SD (mg/dl)	6.12 ± 1.82	5.81 ± 1.86	5.60 ± 1.16
Triglycerides ± SD (mg/dl)	41.68 [®] ± 21.88	31.39 ^{ab} ± 8.07	25.31 [®] ± 3.6

4. ההשמנה פוגעת במבנה העצם הטרבקולרית

לצורך בדיקת השפעותיהן של שתי דיאטות הטיפול על מדדים של מבנה העצם הטרבקולרית והקורטיקלית, החלק הדיסטאלי של עצמות הירך נסרק במכשיר ה-microCT. נתוני הסריקה עברו אנליזה ממוחשבת לכימות התכונות המבניות. לצורך האנליזה של עצם קורטיקלית נבחר אזור של 2.76 מ"מ (א' א') פרוקסימלית לקו השליש מאורך העצם, ואילו לצורך אנליזה של העצם הטרבקולרית נבחר אזור של 1.38 מ"מ (א' ב') פרוקסימלית ללוחית הגדילה.



מדדי מבנה העצם הטרבקולרית המתקבלים מניתוח נתוני הסריקה מראים כי דיאטות ההשמנה גרמו לירידה בפרקציית נפח העצם (BV/TV) (ג') שנבעה מירידה בנפח העצם (BV), ללא שינוי בנפח הכולל (TV) (ד'). ירידה זו הינה תוצאת הפחתה במספר הטרבקולות (Tb.N) (ה'), המתבטאת במרחק בין-טרבקולרי (Tb.Sp) (ו') גדול יותר. השפעת הדיאטות על עובי הטרבקולות הממוצע (Tb.Th) הייתה מתונה יותר, כך שהירידה בו מובהקת בקבוצת החמאה בלבד, בה הייתה השמנה בולטת יותר.

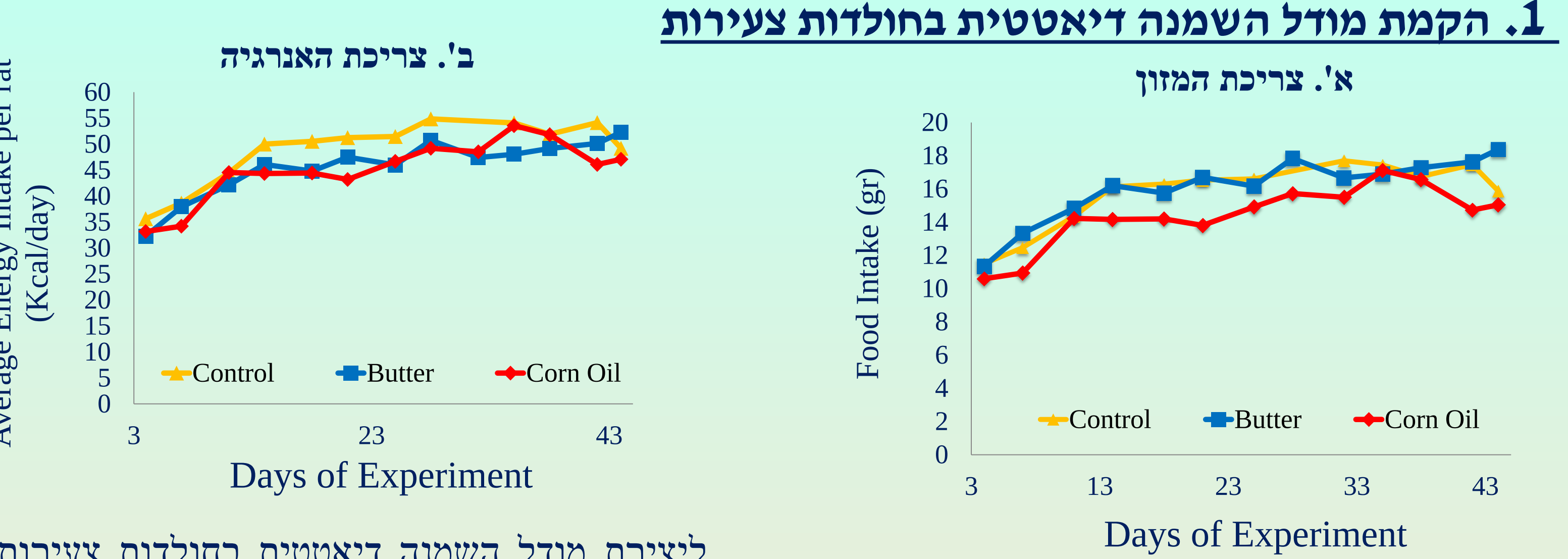
6. ההבדלים במבנה העצם הקורטיקלית לא באו לידי ביטוי בתכונות המכאניות

התכונות המכאניות של העצם מוכתבות על ידי הגיאומטריה ותכונות החומר. בדיקת התכונות המכאניות נעשתה על ידי מבחן כפיפה ב-3 נקודות של עצם הירך. בדיקה זו מאפשרת לאפיין את ההתנהגות המכאנית בעקומת כח-דפורמציה. האזור הליניארי מייצג את אזור הדפורמציה האלסטית. באזור זה שחרור העומס יחזיר את העצם לצורתה המקורית. אזור זה מסתיים בנק' הכניעה (yield), לאחריו מצטבר בעצם נוק פלסטי בלתי הפיך. שיפוע העקומה בנק' זו (Slope) הינו מדד לקשיחות העצם. לבסוף, העצם נשברת והשטה מתחת לעק' זו מייצג את העבודה שנעשתה כדי להגיע לשבירה (Energy to Fracture).

	Control (n=9)	Butter (n=10)	Corn Oil (n=8)
Slope (N/mm) ± SD	342,10 ± 54,06	342,38 ± 34,48	340,16 ± 42,33
Yield (N) ± SD	58,24 ± 8,07	53,31 ± 8,47	56,39 ± 7,22
Fracture Load ± SD (N)	95,27 ± 8,14	100,46 ± 6,08	93,87 ± 10,81
Max. Load ± SD (N)	102,02 ± 7,65	102,52 ± 6,47	99,25 ± 5,61
Energy to Fracture ± SD (N×mm)	63,23 ± 15,24	55,37 ± 15,78	49,89 ± 14,42

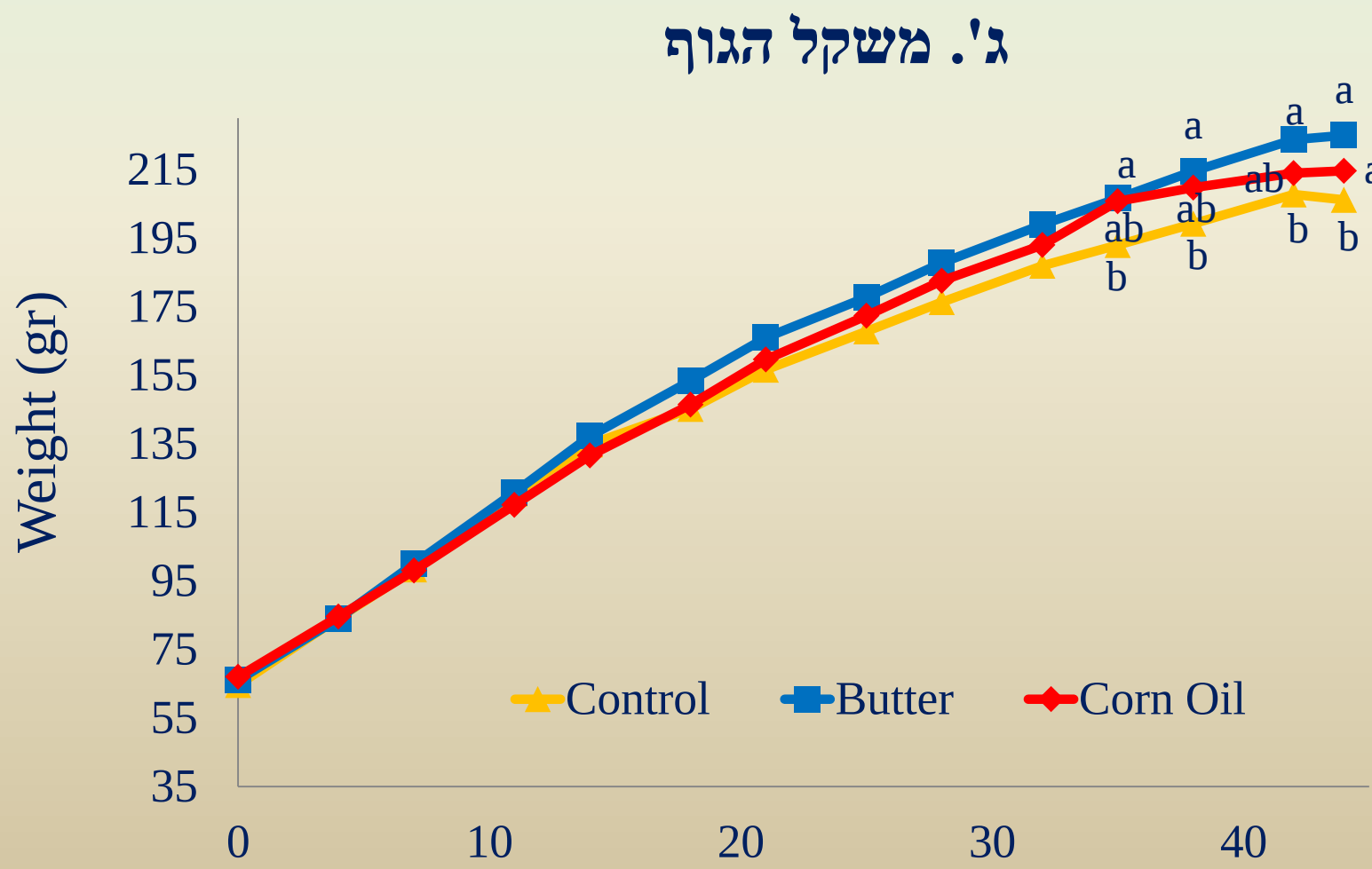
עקומת כח-דפורמציה

מבחן כפיפה ב-3 נקודות

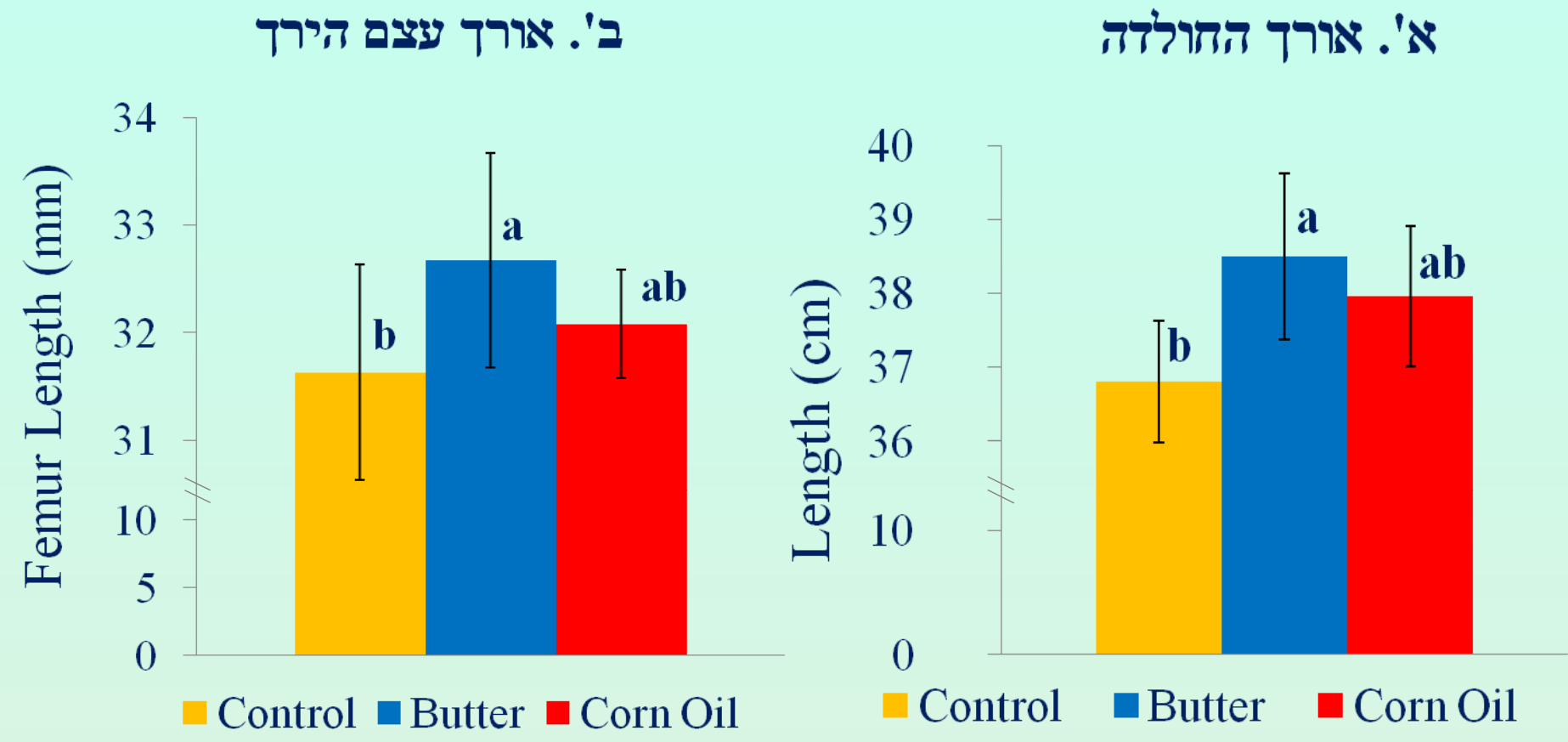


ליצירת מודל השמנה דיאטטית בחולדות צעירות, קבוצות של חולדות הוזנו בדיאטות העשירות בשומן החלב (Butter; n=10) או שמן תירס (Corn Oil; n=9) למשך 6 שבועות החל מגיל חודש. צריכת המזון (א'), צריכת האנרגיה (ב') ומשקל הגוף (ג') נמדדו לכל אורך הניסוי.

כמות המזון שנצרך והצריכה הקלורית לא הושפעו מסוג הדיאטה. עם זאת, ולמרות ההוצאה האנרגטית הגבוהה של תהליך הגדילה, נראתה עליה במשקל החולדות משתי קבוצות הטיפול, שהייתה מובהקת עבור קבוצת החמאה.

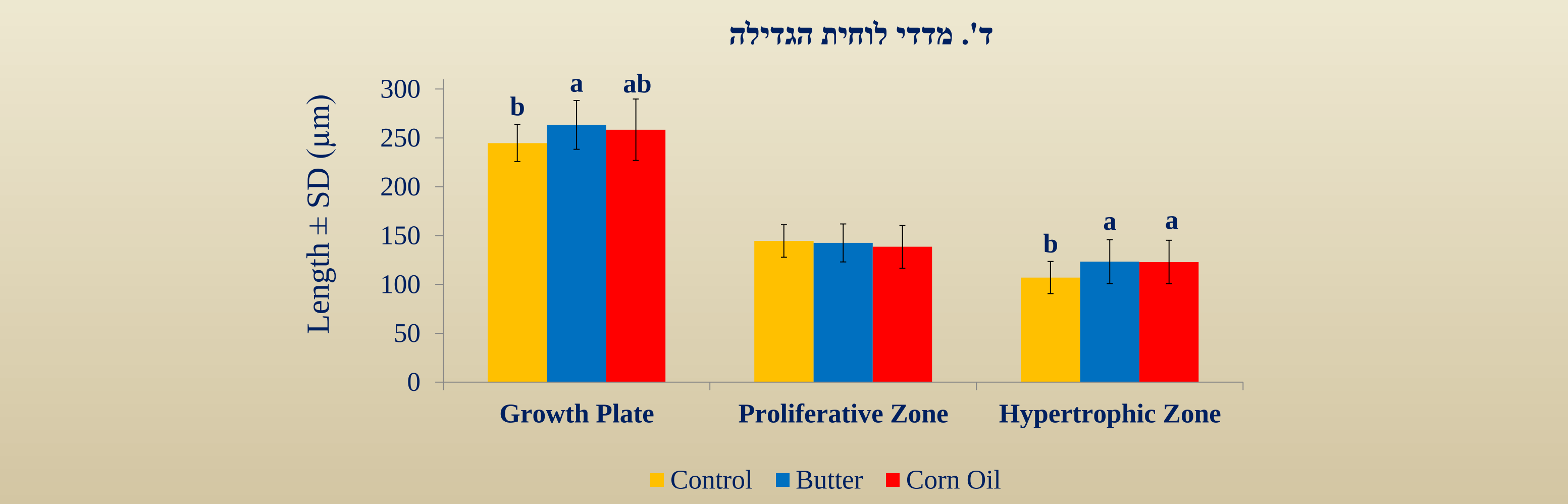


3. השמנה מאיצה את קצב הגדילה האורכית

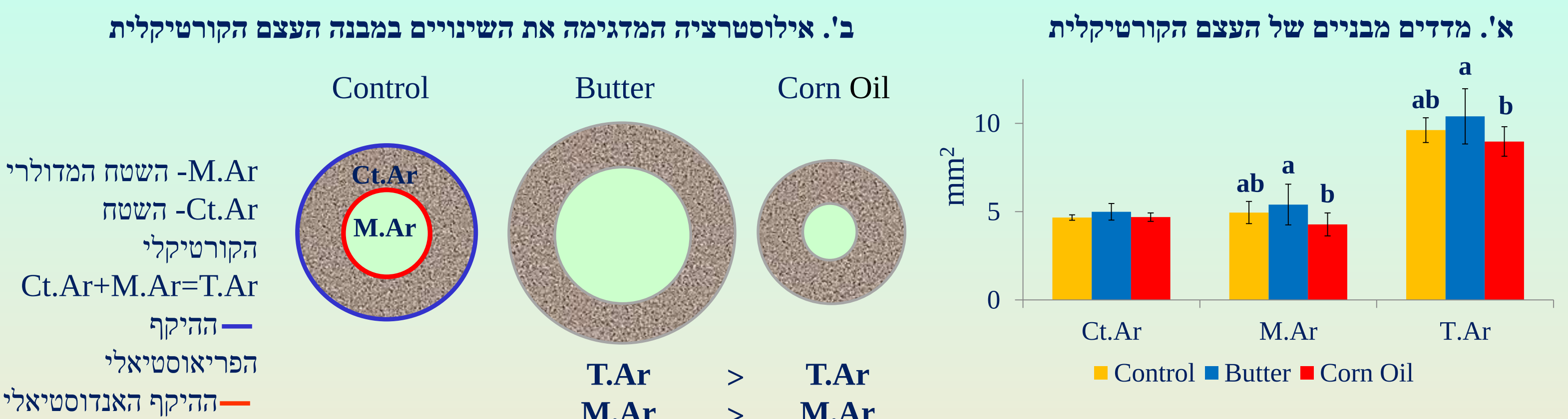


לוחיות גדילה נצבעו O-Safranin

(פאנל עליון) או Eosin & Haematoxylin (פאנל תחתון) (ג'). אורך לוחית הגדילה, וכן האזורים הפרוליפרטיבי (PZ) וההיפרטרופי (HZ) נמדדו על גבי חתכים מ-4 חולדות מייצגות מכל קבוצה (ד'). כל פרמטר נמדד ב-6 אזורים שונים בכל לוחית.



5. לשמן תירס ושומן החלב השפעות מנוגדות על מבנה העצם הקורטיקלית ללא השפעה על צפיפות המינרל



	Control	Butter	Corn Oil
Ct.Ar/T.Ar ± SD (%)	48,69 ^{ab} ± 2,99	48,46 ^b ± 3,44	52,54 ^a ± 3,37
Periosteal Pm ± SD (mm)	11,82 ^{ab} ± 0,45	12,29 ^a ± 0,93	11,43 ^b ± 0,55
Endosteal Pm ± SD (mm)	8,98 ^{ab} ± 0,53	9,29 ^a ± 1,16	8,10 ^b ± 0,68
BMD ± SD (g/cm³)	1,28 ± 0,10	1,32 ± 0,14	1,23 ± 0,03

7. דיון ומסקנות

בעבודה זו הצלחנו להקים מודל השמנה דיאטטית בחולדות צעירות שעודן בשלבי התפתחות השלד. צריכה עודפת של שומן בדיאטה השתקפה בהצטברות מוגברת של שומן וכולסטרול בכבד. הצטברות זו הייתה ניכרת יותר בחולדות שהוזנו בדיאטה העשירה בשמן תירס. להפתעתנו, רמות הטריגליצרידים והכולסטרול בסרום הראו תמונה הפוכה מזו שנראתה בכבד. אנו מציעים כי בעקבות צריכה מוגברת של שומן בדיאטה מתרחש פינוי יעיל יותר של שומנים מהדם לרקמות.

בעבודה זו אנו מראים לראשונה שצריכה מוגברת של שומן בדיאטה מגבירה את הגדילה האורכית אך פוגעת במבנה העצם הטרבקולרית. שינויים אלו נצפו בשתי קבוצות הטיפול, לכן אנו משערים שמקורם מפנוטיפ ההשמנה, ולא מההבדלים בין סוגי השומן. מנגד, בעוד שצריכה מוגברת של שומן החלב הגבירה את הגדילה ההיקפית, צריכה של דיאטה עשירה בשמן תירס עיכבה אותה. מכאן, ניתן להניח שהשפעה זו מתווכת על ידי סוג השומן הנצרך, ולא ההשמנה. צפיפות המינרל בעצמות הירך לא הושפעה מצריכת השומן העודפת. לכן, למרות השינויים שנצפו בגיאומטריית העצם, לא נצפו הבדלים בתכונות המכאניות. בעבודה זו אנו מראים לראשונה כי ההשמנה הנובעת מסוגי שומן שונים בשלב הגדילה המהירה משפיעה על התפתחות העצם. מחד, ההשמנה גורמת להתארכות העצם, אך מאידך, פוגעת במבנה התקין שלה. אנו מסיקים כי צריכה עודפת של שומן בגילאי הילדות תגרם לשינויים בבריאות השלד שיבוטאו גם בבוגר.