

השפעה של Aflatoxin B1 בריכוז תת טוקסי על תאי אפיתל בלוטת החלב

עידית קלי נוה, דר' נורית ארגוב, פרופ' צבי רוט
הפקולטה לחקלאות, מזון וסביבה ע"ש רוברט ה. סמית
האוניברסיטה העברית בירושלים



מבוא

- פרות חלב, הנמצאות בממשק אינטנסיבי, חשופות לרעלים שמקורם במזון ובכלל זה מיקוטוקסינים.
- אפלאטוקסינים הם רעלים המיוצרים ע"י פטריות המהוות גורם מזהם טבעי בסוגי יבול שונים, כדוגמת תירס, סויה וחיטה, המשמשים למספוא.
- לאפלאטוקסינים מיוחסות השפעות מוטגניות וקרצינוגניות ולכן הימצאותם במוצרים מן החי (בשר, חלב) עלולה לסכן את הצרכן. בהתאם, רמתם במזון מעלי גירה ובמוצריהם מבוקרת.
- מכלל האפלאטוקסינים, AFB1 נחשב לרעיל ביותר. בחלקו, מתפרק בכרס ובחלקו נספג לדם ומגיע לכבד/בלוטת החלב ועובר שם מטבוליזם (איור 1). תוצרי עילולים לפגוע בחלבונים, ב-DNA ולהעלות רמת סטרס חמצוני בתאים.
- תהליכי ייצור רכיבי החלב והפרשתם כרוכים במטבוליזם תאי אינטנסיבי ודורשים אנרגיה, תוך צבירת ROS בכמות גדולה, מצב המוגדר כעקה מטבולית. חשיפה לרעלן עלולה להחריף את העקה ולפגוע ביצרנות.

השערת המחקר

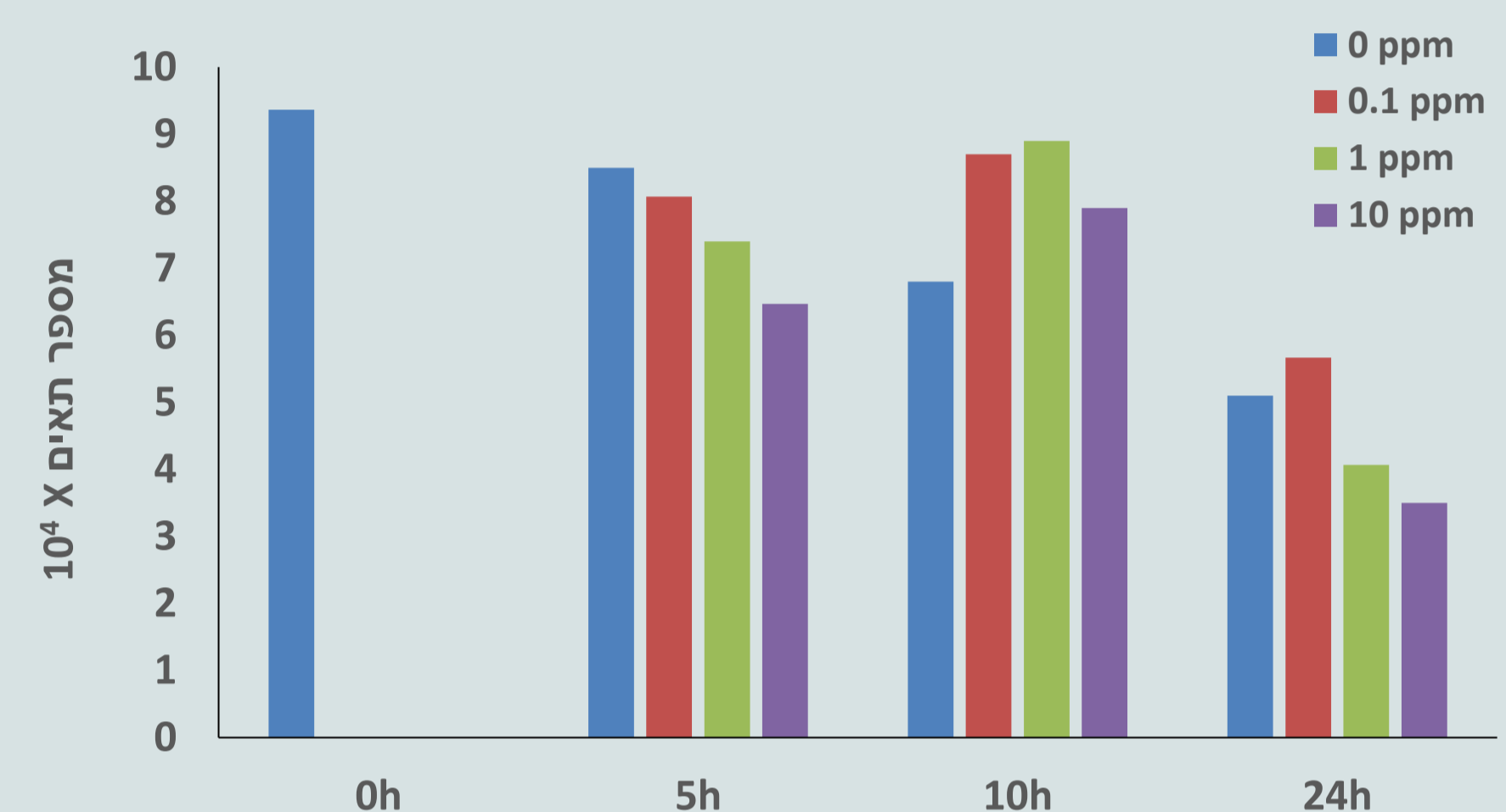
חשיפה לרמות תת טוקסיות של AFB1 תשפיע על יצרנות תאי אפיתל בלוטת החלב (שומן, חלבון ולקטוז).

מטרות ושיטות המחקר

- בחינת ההשפעה של AFB1 בריכוזים תת טוקסיים על תאי אפיתל בלוטת החלב ב-2 רבדים עיקריים:
- ממשק האנרגיה בתא באמצעות בדיקת פוטנציאל הממברנה של המיטוכונדריה (JC1) ונשימה תאית (Seahorse).
- יכולת הייצור וההפרשה של רכיבי החלב: שומן, חלבון ולקטוז (HPLC).

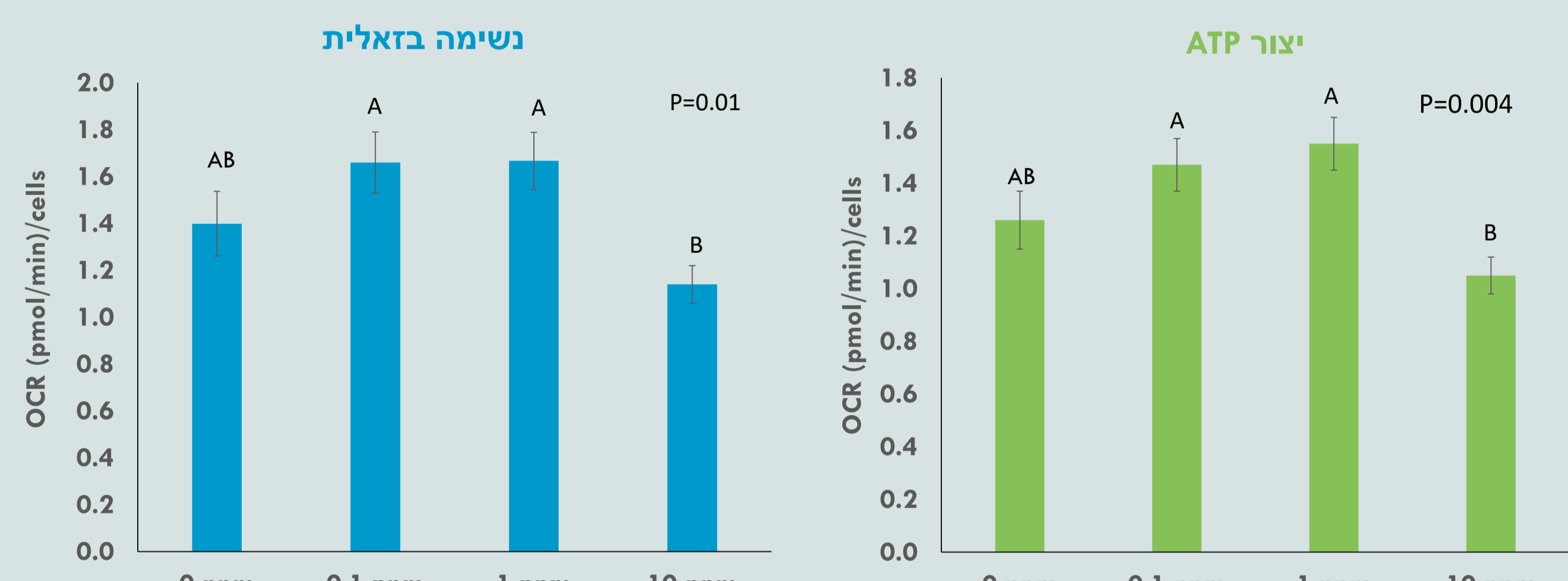
תוצאות

איור 2: השפעת AFB1, בריכוז ומשך חשיפה שונים, על חיות התאים



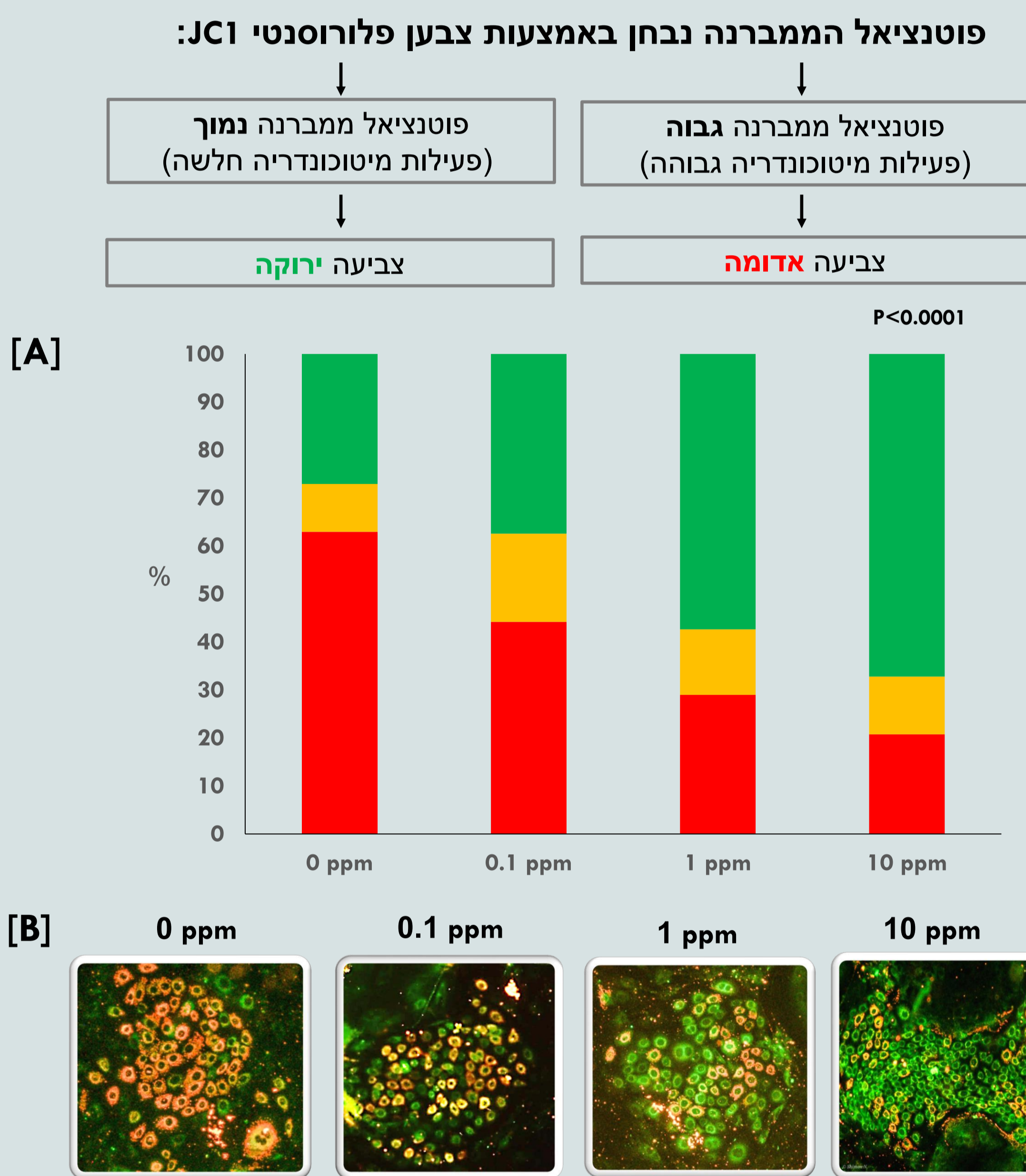
איור 2 - השפעת AFB1 בריכוזים זמני חשיפה שונים על חיות תאי אפיתל בלוטת החלב. תאי אפיתל בלוטת החלב חולקו לקבוצות טיפול אשר נחשפו לרעלן למשך 0, 5, 10 ו-24 שעות, ולריכוזים שונים: 0 (ביקורת), 0.1, 1 ו-10ppm. בתום החשיפה התאים נקצרו, נספרו בהמוציטומטר ונקבע אחוז התאים החיים. על בסיס ממצאים אלו (זמן וריכוז) ביססנו את המשך העבודה.

איור 4: חשיפה לריכוזים עולים של AFB1 גרמה לתגובה בי פאזית של נשימה תאית



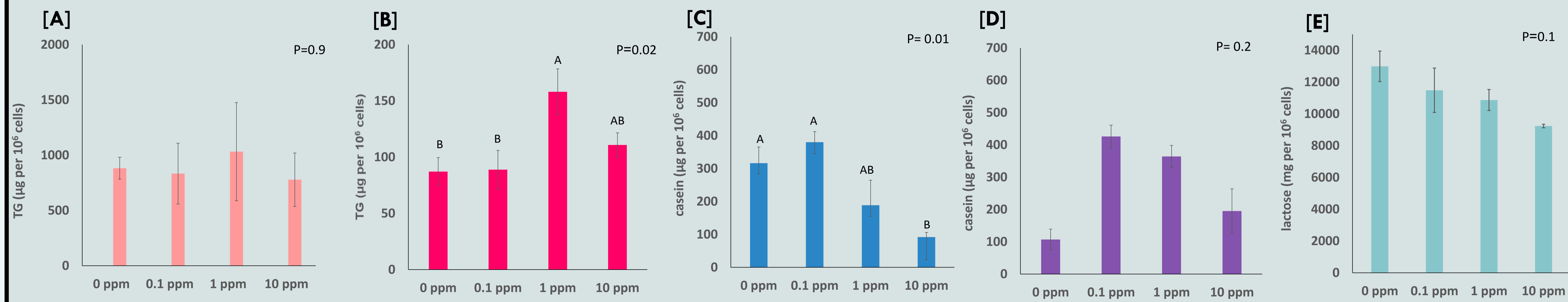
איור 4 - השפעת חשיפה של תאי אפיתל בלוטת החלב לריכוזי AFB1 שונים על הנשימה התאית. התאים נחשפו לריכוזים רעלן עולים של 0 (ביקורת), 0.1, 1 ו-10ppm. לאחר 5 שעות של חשיפה נמדדה צריכת החמצן על ידי מכשיר Seahorse בזמן אמת למשך שתיים נוספות בהן נחשפו התאים לחומרים אוליגומיציין, FCCP ורוטונן.

איור 3: חשיפה ל-AFB1 גרמה לירידה בפוטנציאל הממברנה של המיטוכונדריה בתאים



איור 3 - השפעת ריכוזי AFB1 שונים על פוטנציאל הממברנה של המיטוכונדריה בתאי אפיתל בלוטת החלב. [A] התאים נחשפו לריכוזי רעלן עולים של 0 (ביקורת), 0.1, 1 ו-10ppm למשך 5 שעות. לאחר מכן התאים נצבעו בצביעה פלורוסנטית JC-1 וסווגו לשלוש קבוצות בהתאם לצבעם, אדום כתום וירוק, המעיד על פוטנציאל הממברנה של המיטוכונדריה, אשר נמצא במתאם עם פעילותן. הצבע האדום מסמל פוטנציאל ממברנה גבוה, הצבע הירוק מסמל פוטנציאל ממברנה חלש, והצבע הכתום מייצג מצב ביניים. [B] בתמונות מוצג מראה תאי אפיתל בלוטת החלב לאחר צביעה פלורוסנטית JC-1, בקבוצות הטיפול השונות.

איור 5: AFB1 השפיע על ייצור שומן (TG), חלבון ולקטוז בתאי אפיתל בלוטת החלב באופן תלוי ריכוז



איור 5 - השפעת חשיפה של תאי אפיתל בלוטת החלב לריכוזי AFB1 שונים על יצרנות שומן (TG), חלבון ולקטוז. התאים נחשפו לריכוזי רעלן עולים של 0 (ביקורת), 0.1, 1 ו-10ppm. לאחר 5 שעות התאים נקצרו ונאספו, מדיים ההדגרה נשאב ונבדק לריכוז הטריגליצרידים בתאים [A], ריכוז הטריגליצרידים שהופרש אל המדיום [B], ריכוז החלבון קזאין בתאים [C] וריכוז החלבון קזאין שהופרש למדיום [D] וריכוז הלוקטוז שהופרש למדיום [E].

דיון ומסקנות

- חשיפת תאי אפיתל בלוטת החלב לריכוז הגבוה של AFB1 (10ppm) הביאה לפגיעה בכל הפרמטרים שנבדקו. בכלל זה חיות התאים, ייצור אנרגיה וייצור רכיבי החלב (שומן, חלבון ולקטוז).
- עם זאת, בחשיפת התאים לריכוזי הביניים התקבלה עליה בצריכת החמצן ובייצור ATP, תוך רמת יצרנות של חלבונים ולקטוז ברמה דומה לזו שהתקבלה ב-control.
- תוצאות אלו מצביעות על כך שריכוזים תת טוקסיים של AFB1 פוגעים ביעילות הייצור של תאי אפיתל בלוטת החלב.
- יתכן והפגיעה ביעילות נגרמת כתוצאה משיבוש פעילות המיטוכונדריה, כפי שהדבר מתבטא בירידה בפוטנציאל הממברנה עם חשיפה לכל טווח ריכוזי הרעלן שנבדק.
- תגובת התא לרעלן עשויה להתבטא בעקה של הרשתית האנדופלסמיתית, המתבטאת פעמים רבות בעליה בסינתזת שומנים.
- לפיכך, ייתכן והעליה בייצור השומן שנצפתה בתאים שנחשפו לרעלן הינה חלק ממאמצי התא לשמור על הומואוסטזיס.