

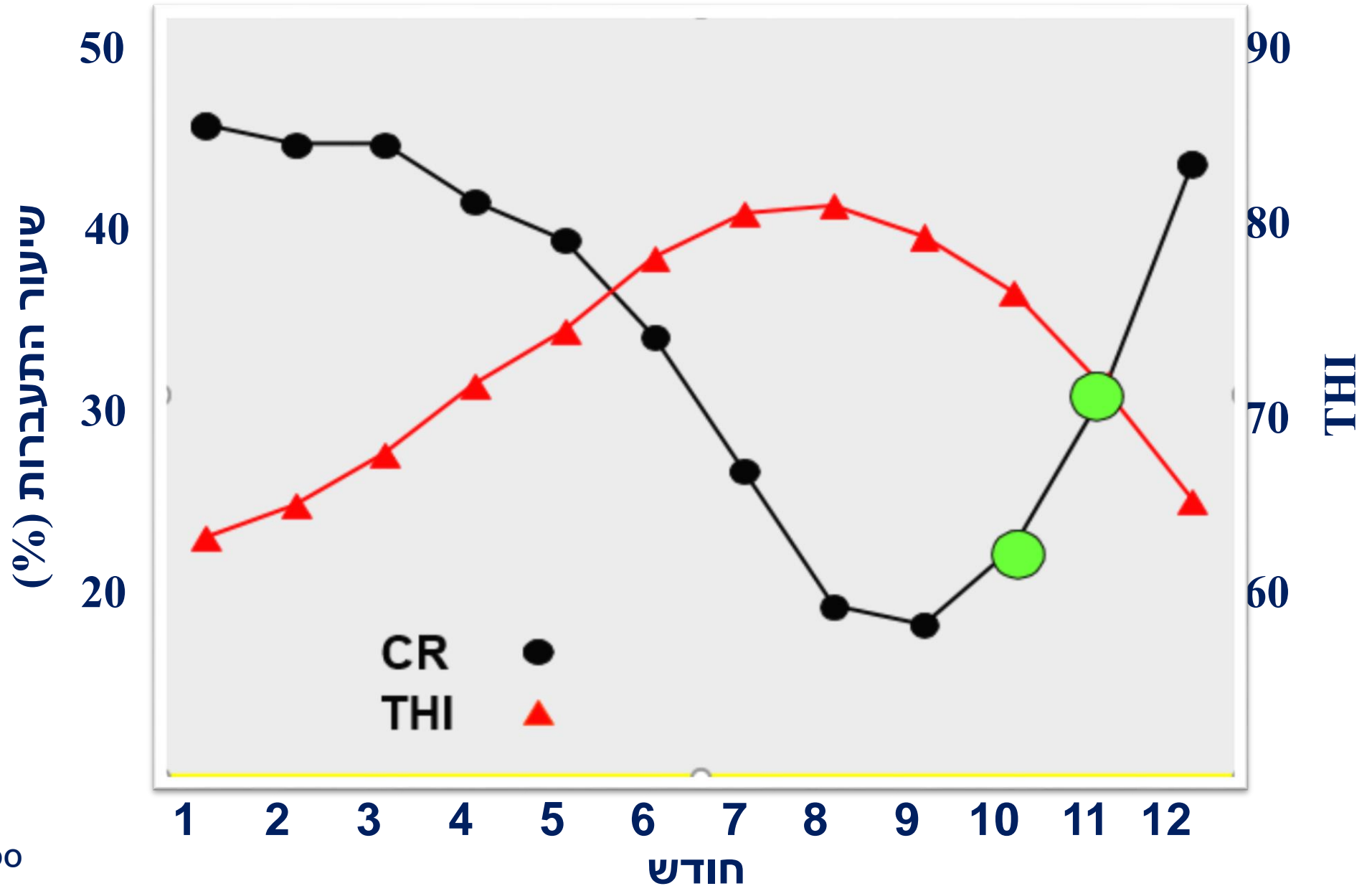


# מורפוקינטיקה והתפתחות עוברית בעקבות חשיפת ביציות בקר לעקת חום

שירה יעקבי-ארצי, דורית קלו, צביקה רוט

המחלקה לבעלי חיים, הפקולטה לחקלאות מזון וסביבה  
ע"ש רוברט ה.סמית, האוניברסיטה העברית בירושלים

# עקת חום ופוריות



# עקת חום ופוריות

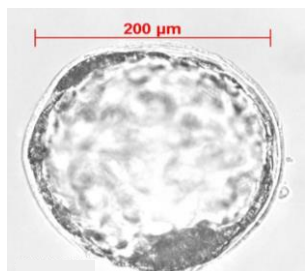
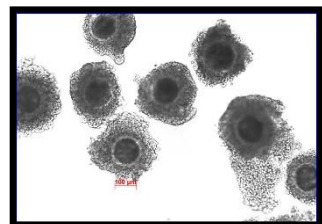
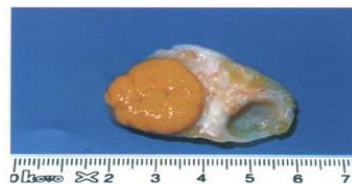
ירידה בהופעה ייחומית  
(עוצמה ומשך הייחום)

פגיעה בהתפתחות ותפקוד  
זקיקי השחלה

פגיעה בהפרשת פרוגסטרון – תמיכה  
בעובר

פגיעה באיכות הביצית

פגיעה בהתפתחות עוברית

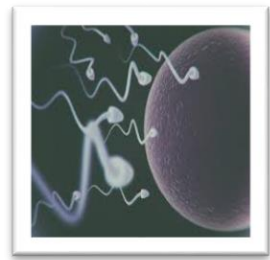


ירידה  
בפוריות

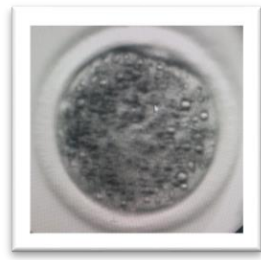


# התפתחות עוברית מוקדמת

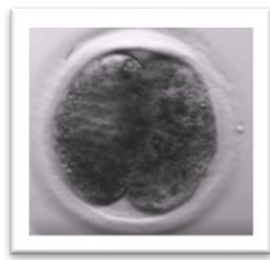
## הפריה



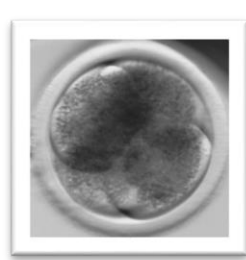
ביצית  
+  
זרע



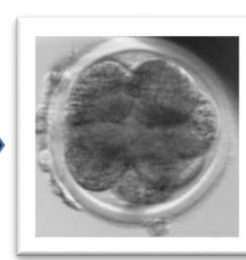
זיגוטה



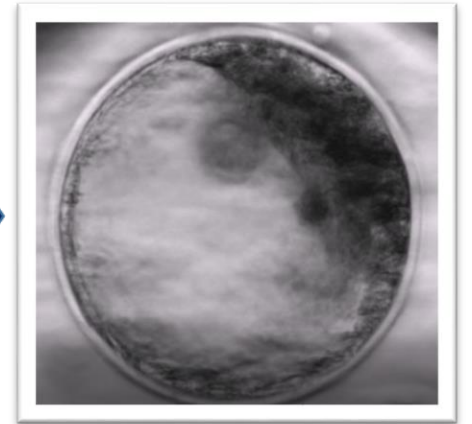
עובר בן  
2 תאים



עובר בן  
4 תאים



עובר בן  
8 תאים



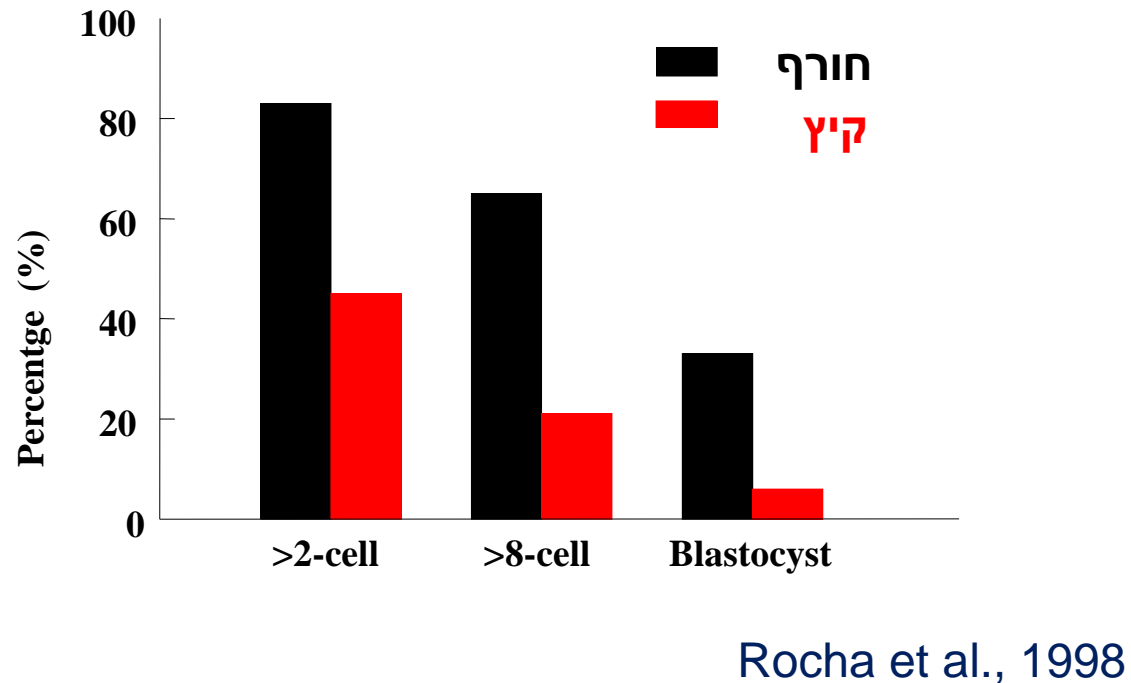
בלסטוציסט  
יום 7/8



חלוקות מיטוטיות

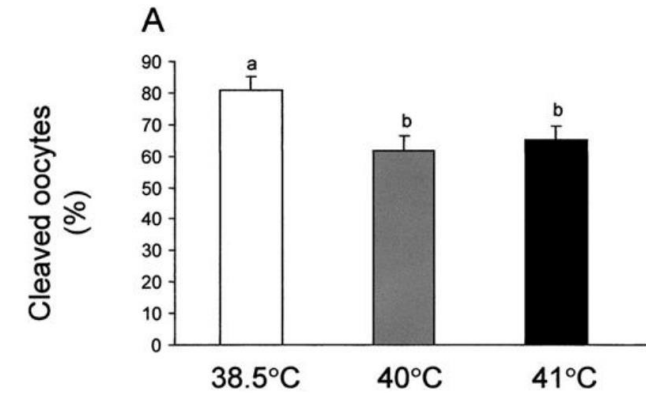
# עקת חום והתפתחות עוברית מוקדמת

## מודל In vivo

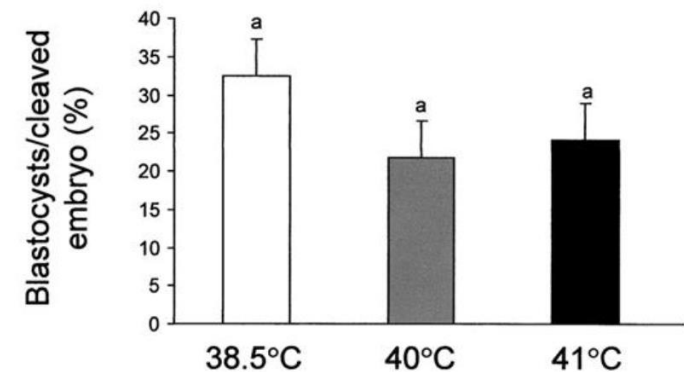


## מודל In-vitro

### חלוקת ראשונות



### התפתחות לבלסטוציסטים

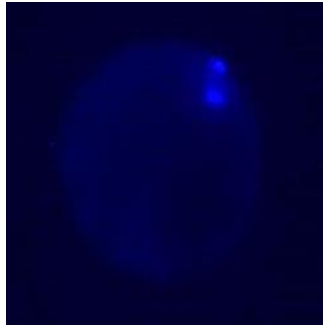


Roth and Hansen., 2004

# השפעה של עקת חום על הביצית

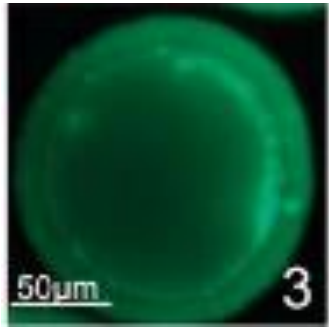
- שינויים בפוטנציאל הממברנה של המיטוכונדריה

Gendelman and Roth, 2012



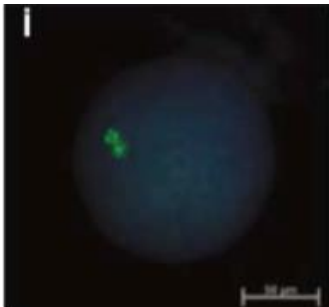
- מוות תאי (אפופטוזיס)

Roth and Hansen, 2004



- פגיעה בהבגרת הביצית

Roth and Hansen, 2005



- עקת חימצון

Nabenishi et al, 2012; Ispada et al, 2018

# מטרות המחקר

1. לבחון את המצב החמצוני (רמת רדיקלים חופשיים) של ביציות אשר נחשפו לעקת חום בזמן ההבגרה

2. לבחון האם הוספת אנטי-אוקסידנט למדיום ההבגרה בביציות שנחשפו לעקת חום תשפיע על רמת הרדיקלים חופשיים, על יכולת הבגרה של הביצית ועל היכולת ההתפתחות של העובר

3. לבחון את המורפוקינטיקה של התפתחות העובר לאחר הפריה בעקבות חשיפת הביצית במהלך ההבגרה לעקת חום עם או ללא אנטי-אוקסידנט



# ניסוי מס' 1



**האם חשיפה לעקת חום מלווה בסטרס חמצוני**

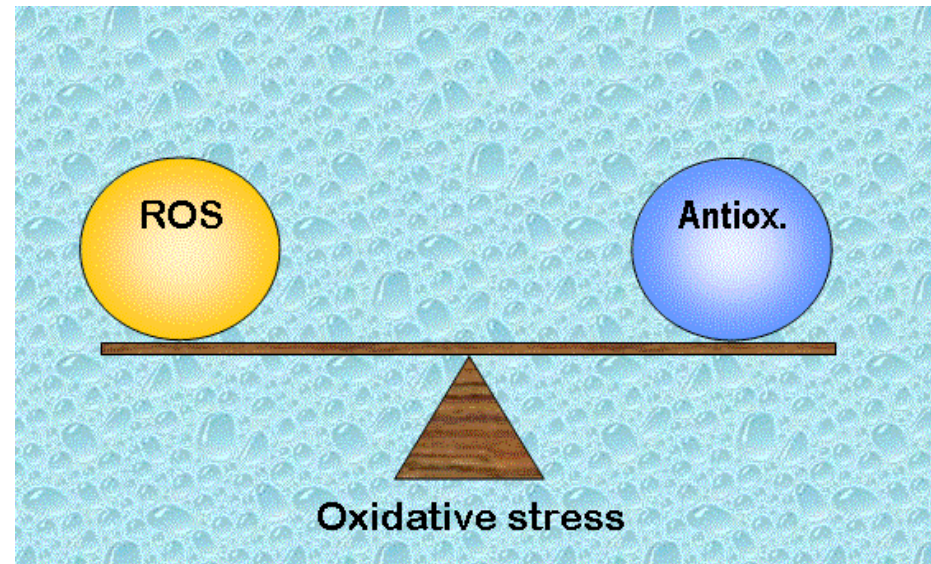
**ויצירת רדיקלים חופשיים**

**ואם כן, האם שימוש באנטי-אוקסידנט, יכול למזער את הנזק  
שנגרם**



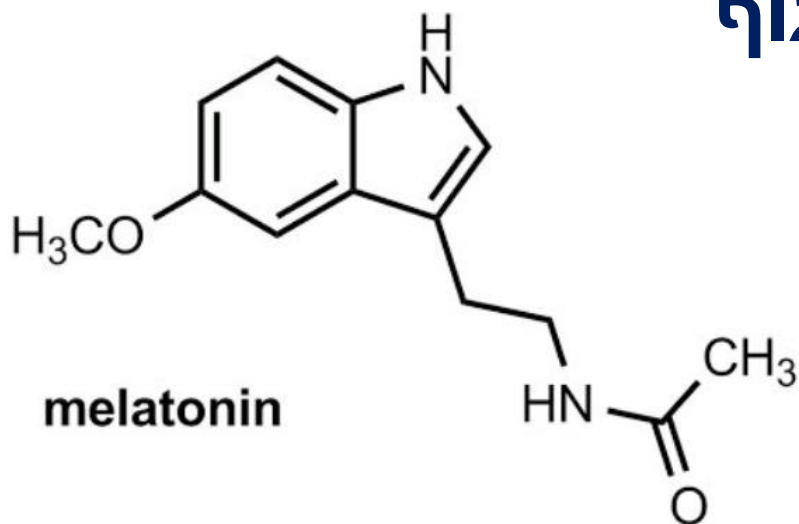
מה היא עקת חמצון?

קשורה בעלייה בייצור של רדיקלים חופשיים - ROS  
(reactive oxygen species)



# הורמון מלטונין כאנטי-אוקסידנט

מלטונין הוא הורמון המופרש מבלוטת האצטרובל במוח,  
כחלק מתהליך הויסות האנדוקריני הטבעי של הגוף



מלטונין משפיע על התפקוד התאי ע"י קישור  
למברנה ולרצפטורים גרעיניים  
וכמו כן כאנטי-אוקסידנט

# טיפול במלטונין

**טיפול במלטונין בפרות בתקופת היובש בעונה החמה  
שיפר את אחוז ההתעברות מהזרעה ראשונה**

Garcia-Ispuerto et al., 2013

**הוספת מלטונין למדיום ההבגרה העלתה ביטוי של גנים  
הקשורים להבגרת הביצית**

El-Raey et al., 2011

**הוספת מלטונין למדיום ההבגרה לא גרמה לשינוי בשיעורי  
חלוקת העוברים והתפתחות לבלסטוציסטים**

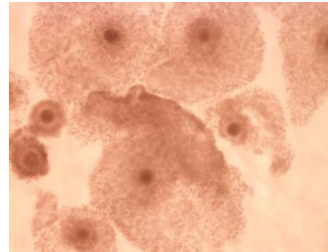
Takada. et al., 2010; Rispoli et al., 2011; Farahavar et al., 2010

# מהלך העבודה



38.5°C  
5% CO<sub>2</sub>  
+/- מלטונין

הבגרת הביציות  
22 שעות



איסוף  
ביציות

שחלות  
מבית  
מטבחיים

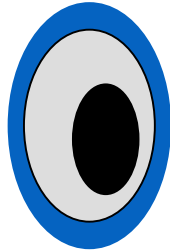
41.5°C  
6% CO<sub>2</sub>  
+/- מלטונין

צביעת גרעין  
(DAPI)

צביעת ROS  
(H<sub>2</sub>DCFDA)

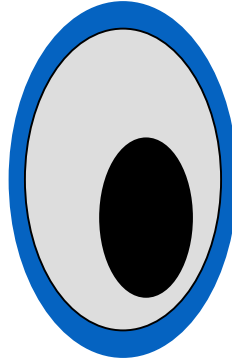
# הבגרת ביציות

גדילת הביצית



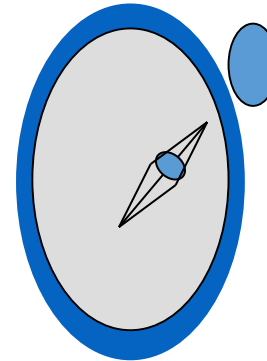
**GV**

השלמת תהליך  
המיוזה



**Prophase I**  
(diplotene arrest)

גוף קוטבי ראשון

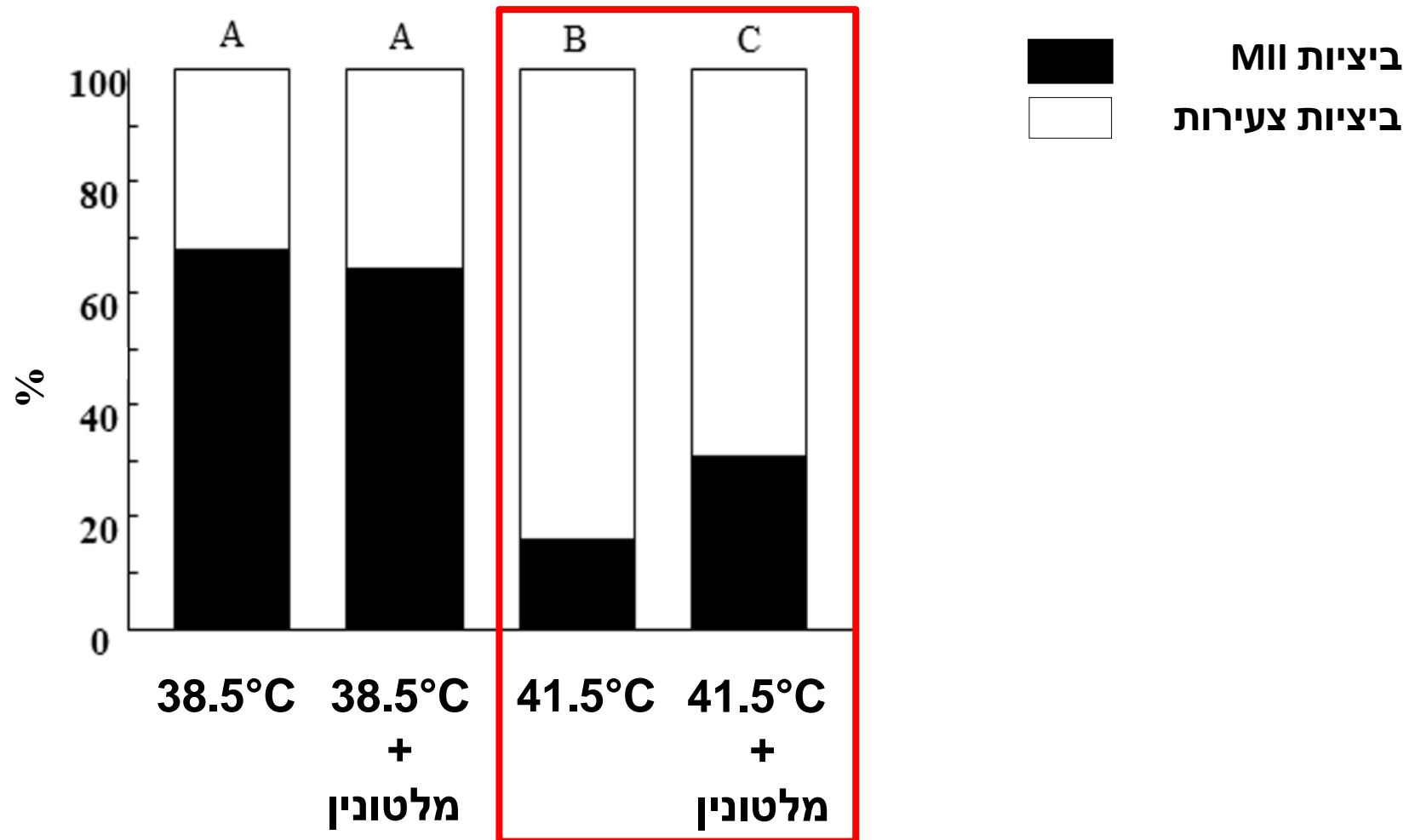


**Metaphase II**  
arrest (MII)

**הבגרה גרעינית**

# תוצאות

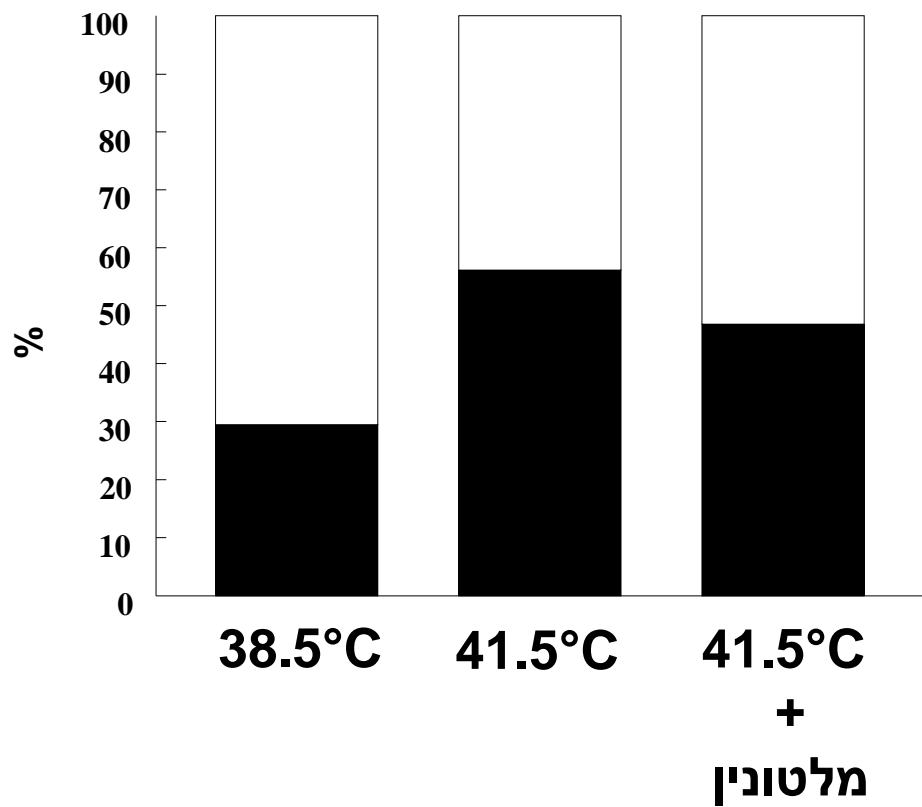
שעור הביציות שעברו הבגרה של הגרעין והגיעו לשלב הOO



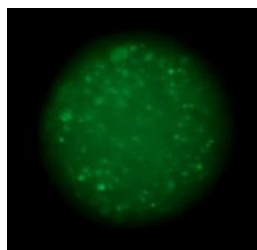
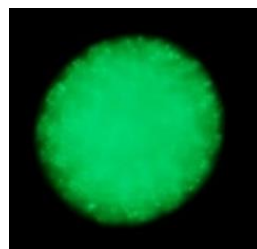
# תוצאות

## שיעור ביציות עם ROS גבוה

■ ביציות עם ROS גבוה  
□ ביציות עם ROS נמוך

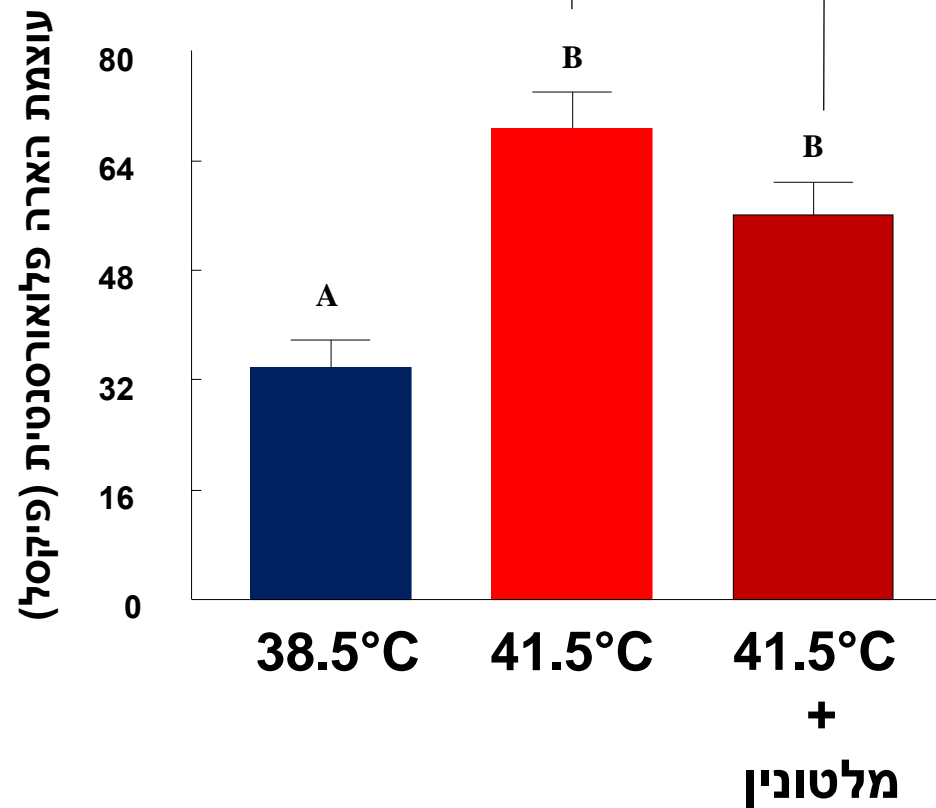


ROS גבוה



ROS נמוך

## רמת ROS (רדיקלים חופשיים)



# ניסוי מס' 2

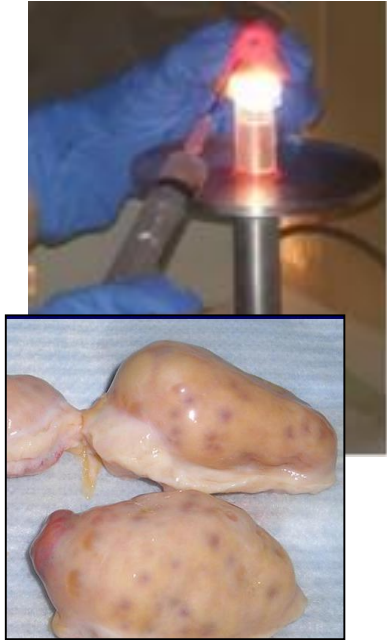
לבחון האם הוספת מלטונין למדיום ההבגרה  
של ביציות שנחשפו  
לעקת חום

תשפיע על יכולת ההתפתחות של העובר

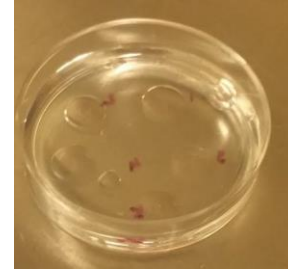
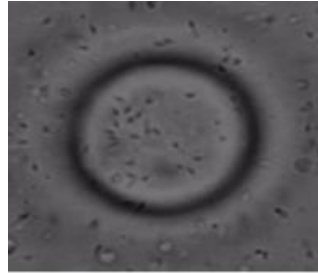




# מהלך העבודה



38.5°C  
5% CO<sub>2</sub>  
+/- מלטונין



הבגרת  
הביציות  
22 שעות

הפרייה  
(18 שעות)

גידול בתרבית  
(8 ימים)

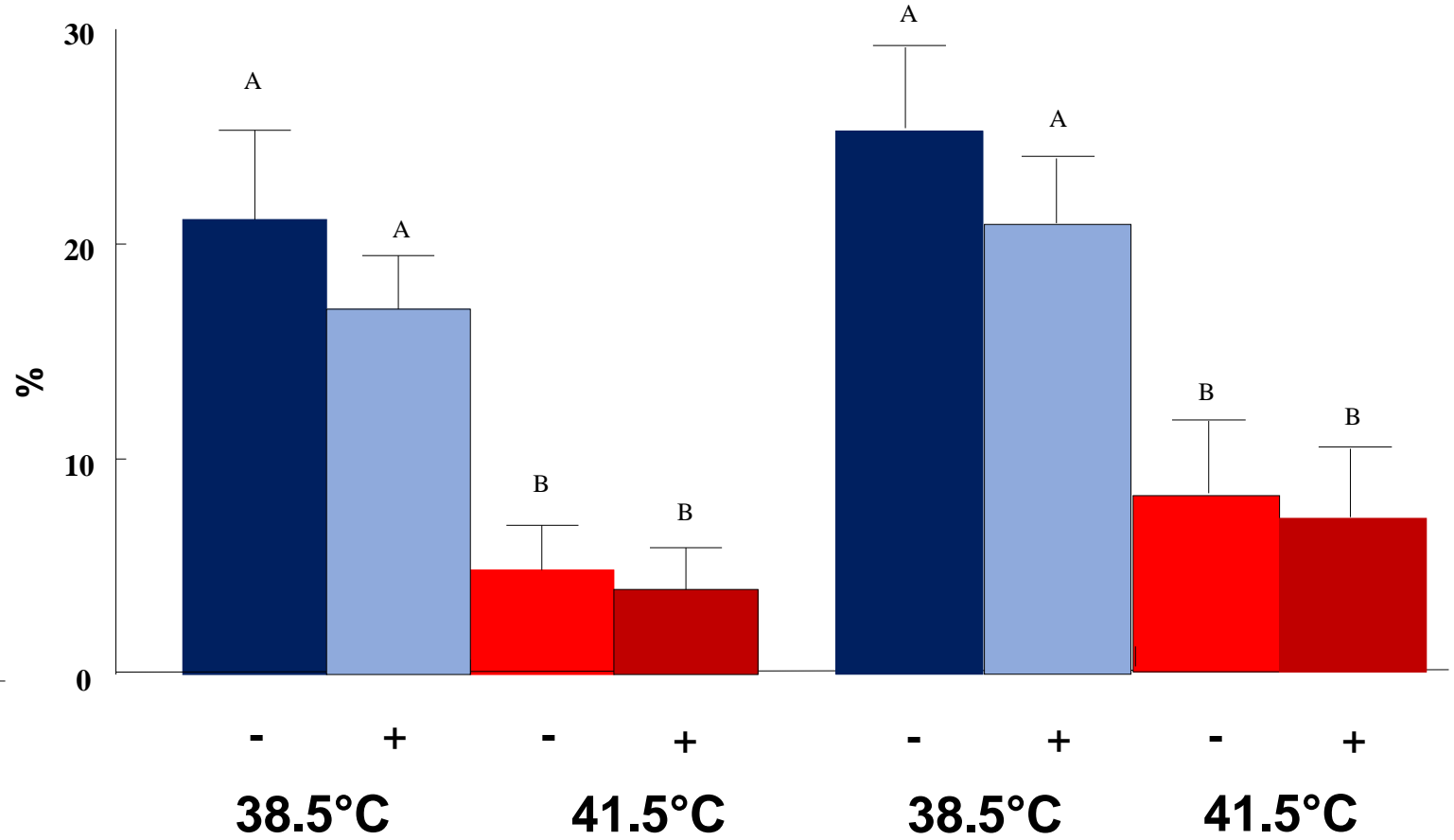
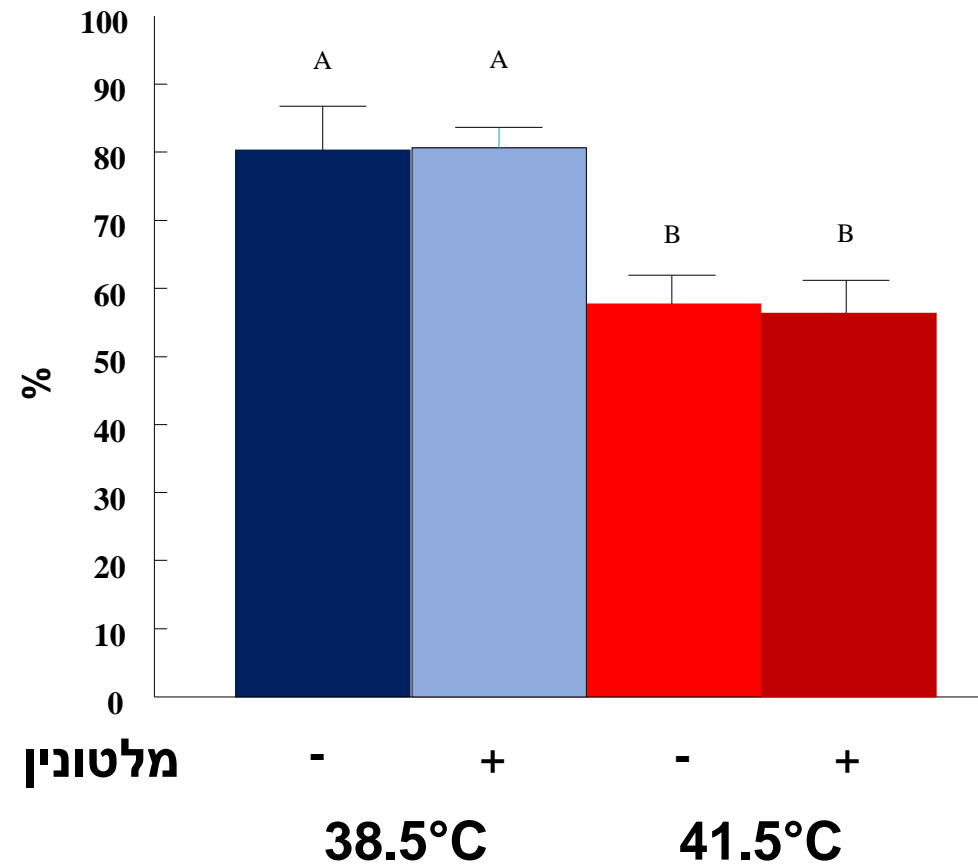
38.5°C; 5% CO<sub>2</sub>; 5% O<sub>2</sub>

41.5°C  
6% CO<sub>2</sub>  
+/- מלטונין

# תוצאות ודיון

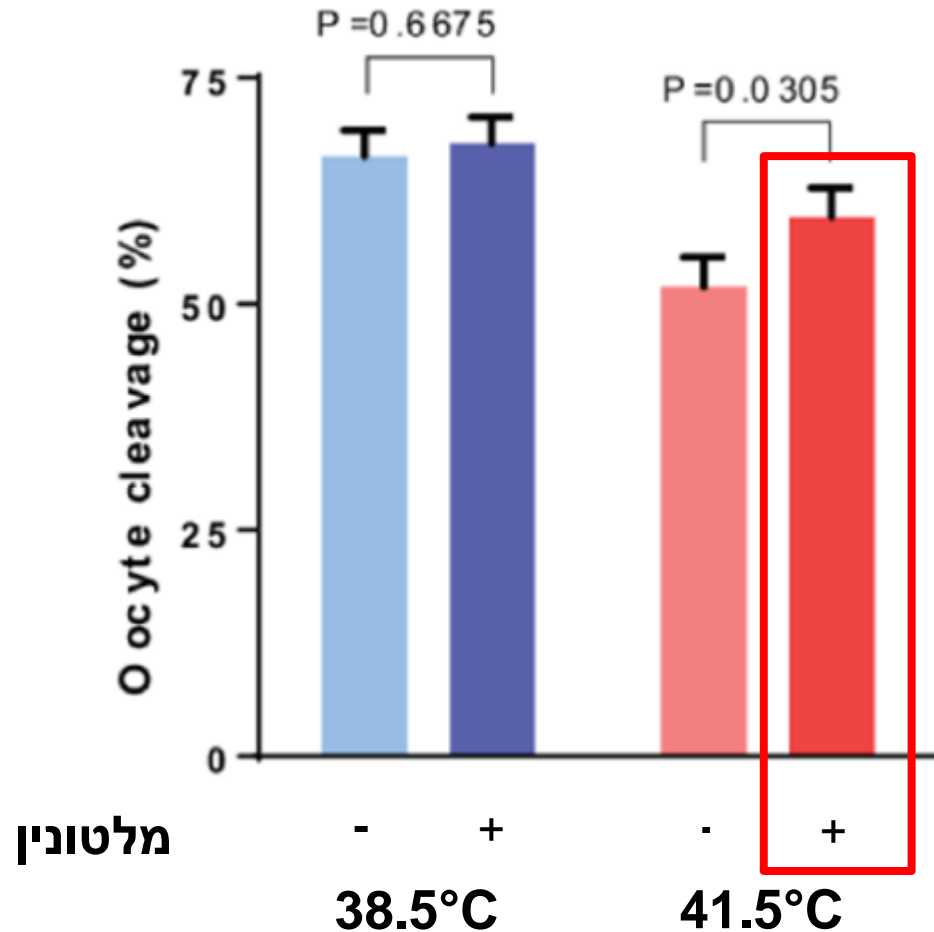
עוברים בני 2-4 תאים

בלסטוציסטים/עוברים בלסטוציסטים/כלל הביציות

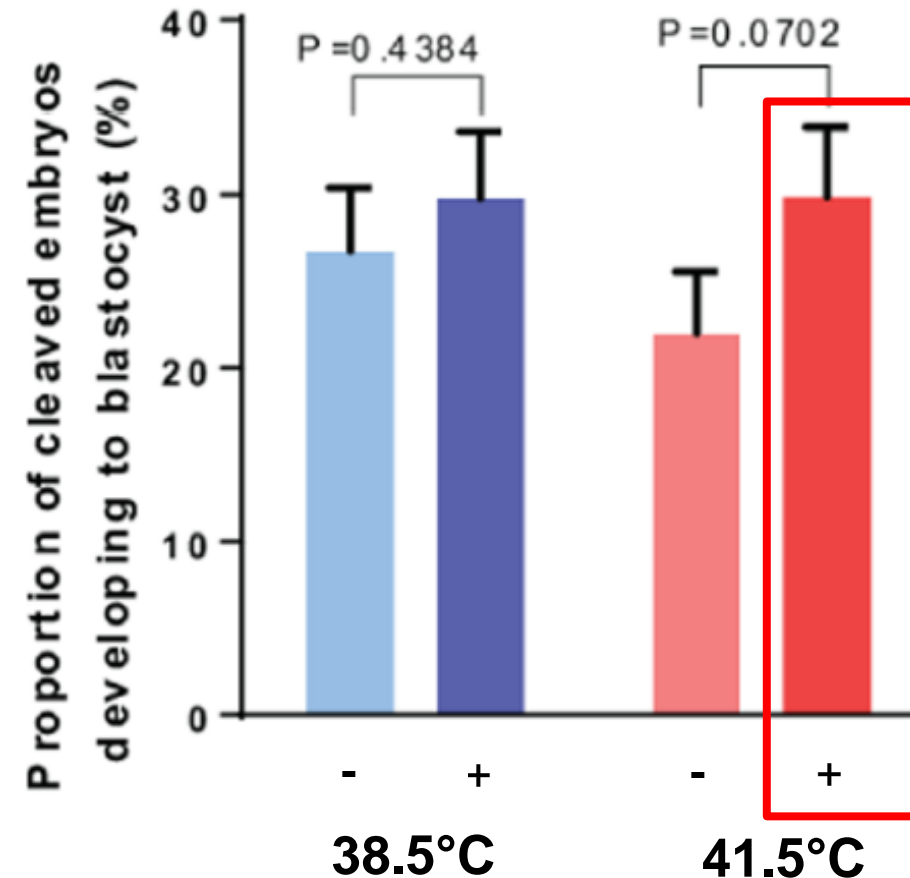


# השפעת מלטונין על התפתחות עוברית

עוברים בני 2-4 תאים



בלסטוציסטים



# ניסוי מס' 3

לבחון האם חשיפה לעקת חום במהלך ההבגרה  
תשפיע על המורפוקינטיקה של התפתחות העובר  
לאחר ההפריה והאם הוספת מלטונין

תוכל לנטרל את ההשפעה הזו



# מורפוקינטיקה של עוברים לפני השרשה

## קינטיקה

משך הזמן בין חלוקת התא  
והזמן המדויק שבו  
מתרחשת חלוקת התא

## מורפולוגיה

- הופעת גרעינים (זכרי ונקבי)
- גודל, צורה של התאים
- דרגת פרגמנטציה
- ואקואולות
- דירוג בלסטוציסט

# אינקובטור המצויד ב- Time Lapse System

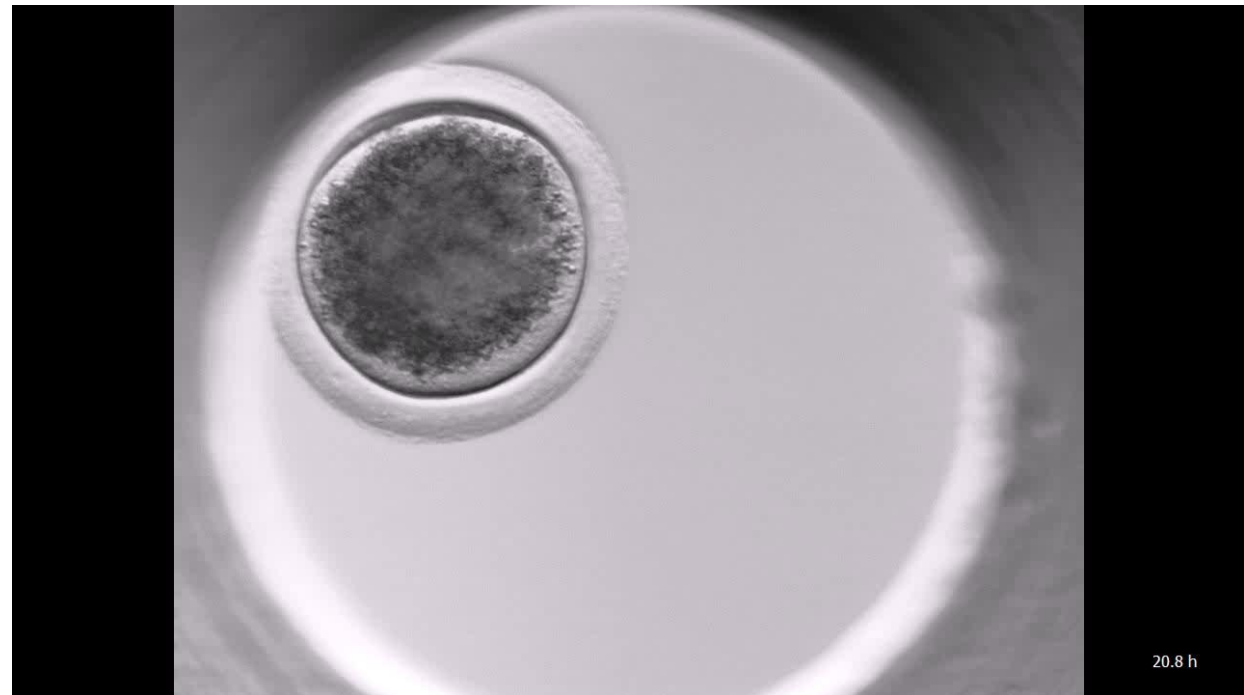
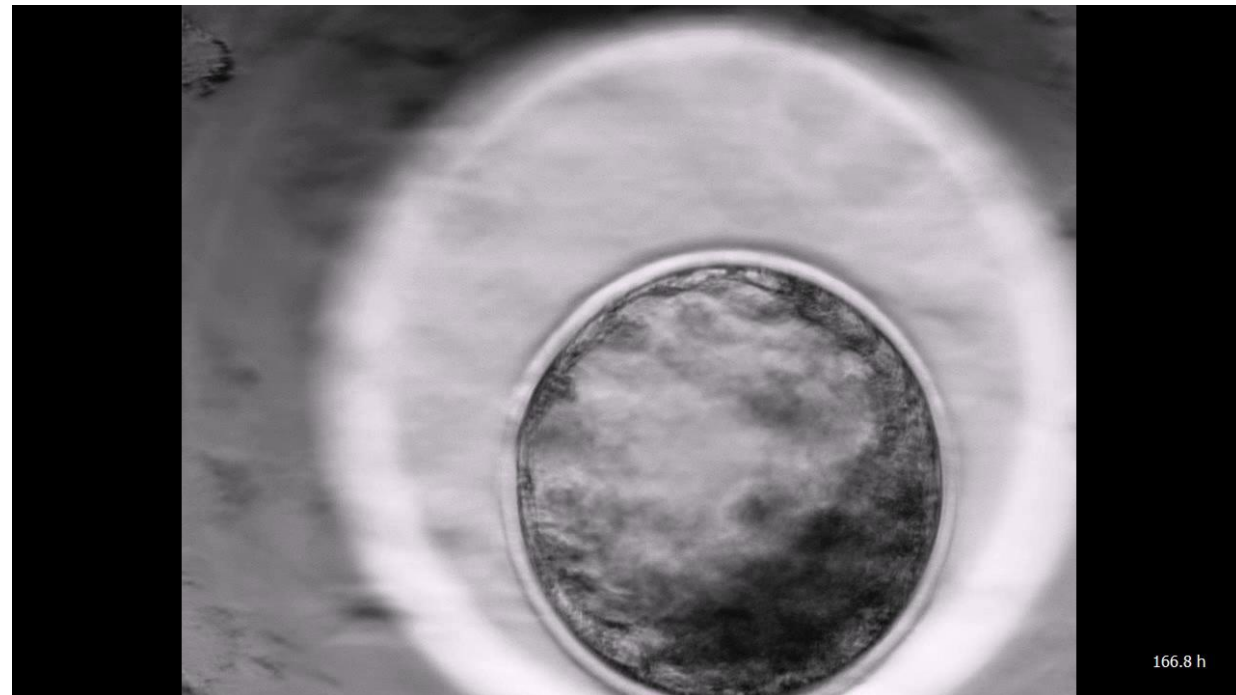


- ניטור רציף של העוברים ללא שינויים בתנאי הגידול
- בדיקת מורפולוגית עובר מדויקת יותר
- קבלת מידע פרטני על כל עובר ועובר
- בחינה מדויקת של זמני חלוקה בעובר
- זיהוי מופעי חלוקה שונים לאורך תקופת הגידול

# אינקובטור המצויד Time Lapse System - ב

התפתחות לבלסטוציסט

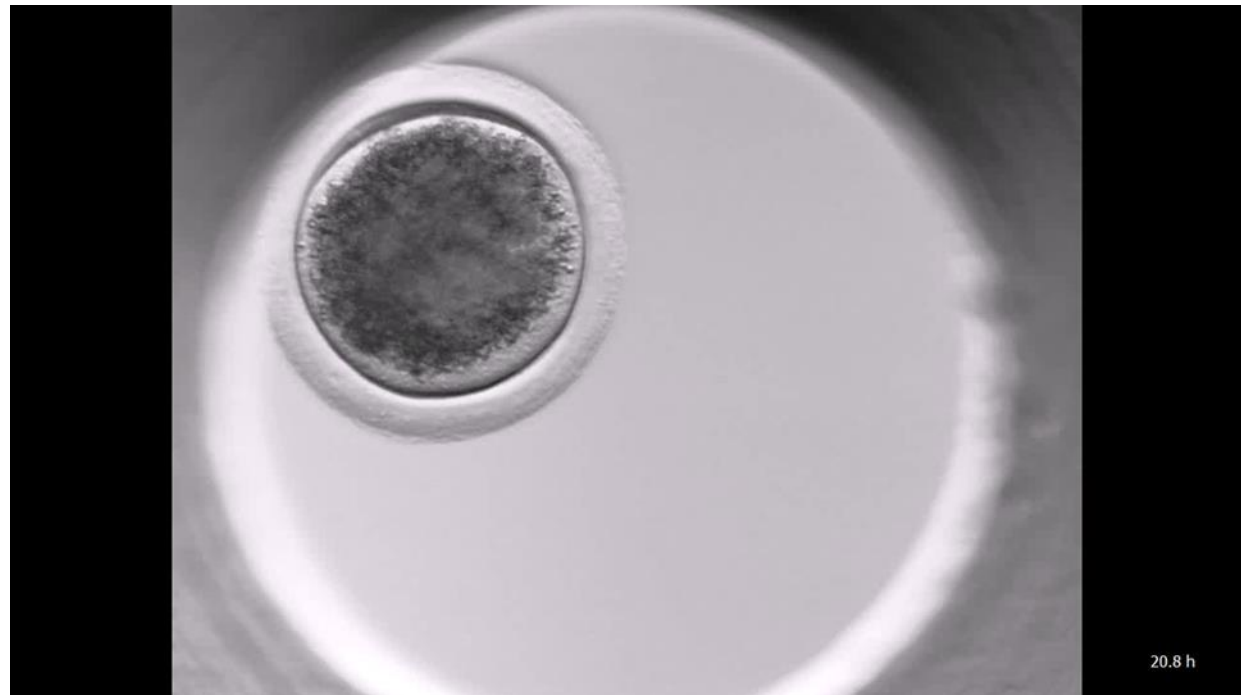
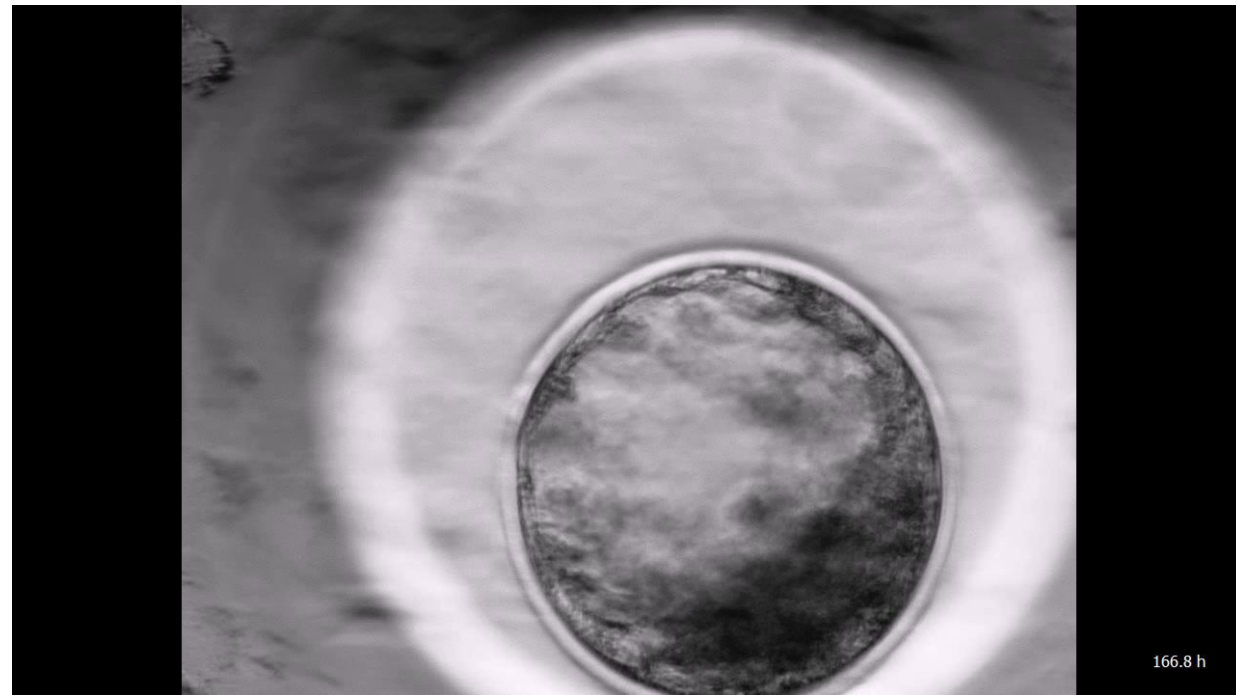
חלוקות ראשונות



# אינקובטור המצויד Time Lapse System - ב

התפתחות לבלסטוציסט

חלוקות ראשונות





# מהלך העבודה

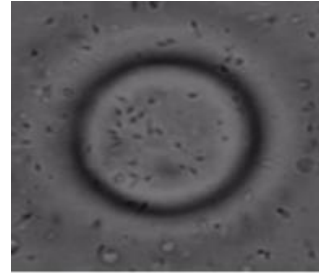
38.5°C  
5% CO<sub>2</sub>

+/- מלטונין

הבגרת  
הביציות  
22 שעות

41.5°C  
6% CO<sub>2</sub>

+/- מלטונין

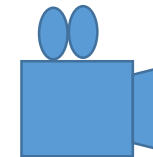


הפריה  
(18 שעות)

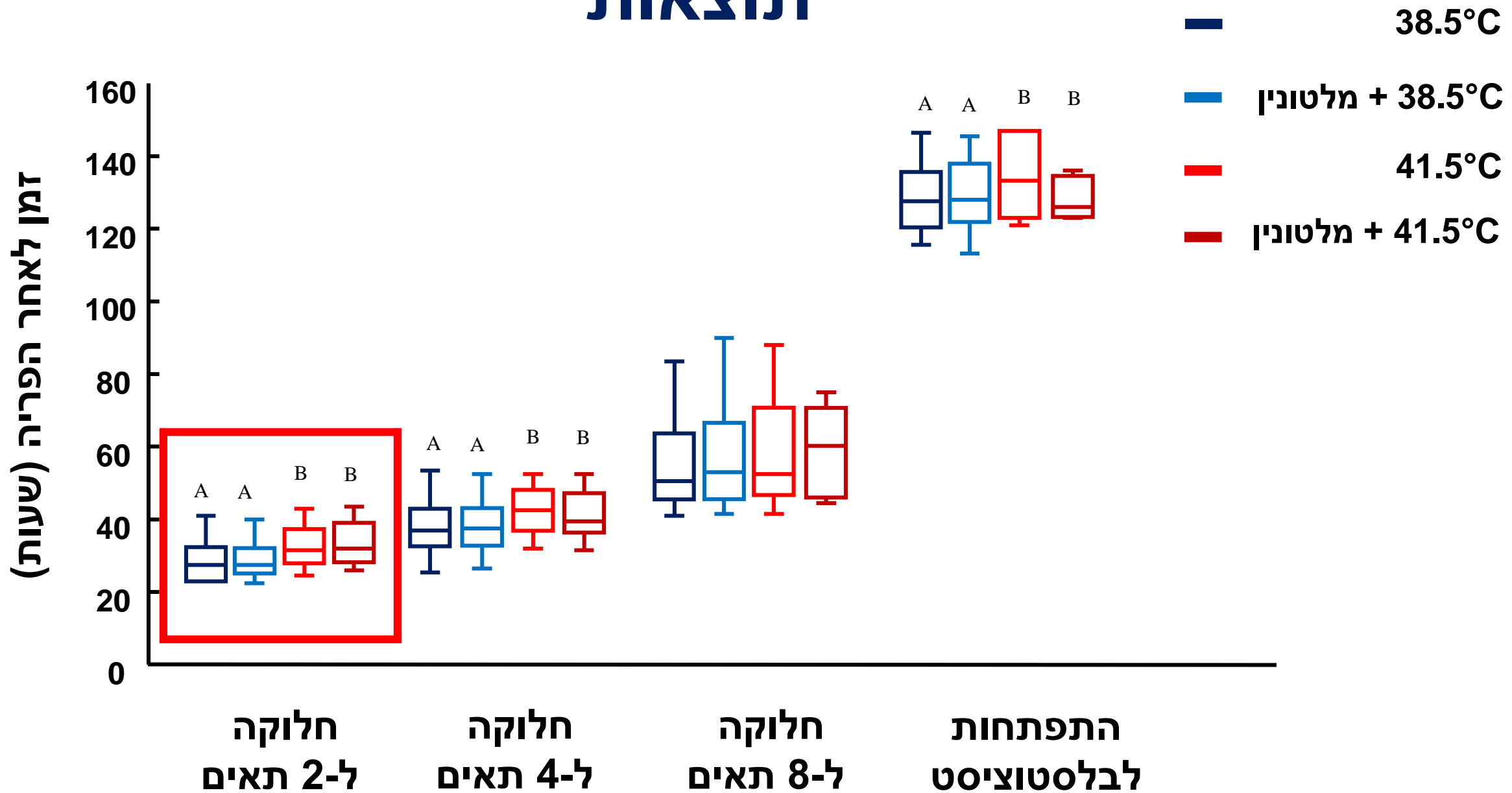


גידול בתרבית  
(8 ימים)

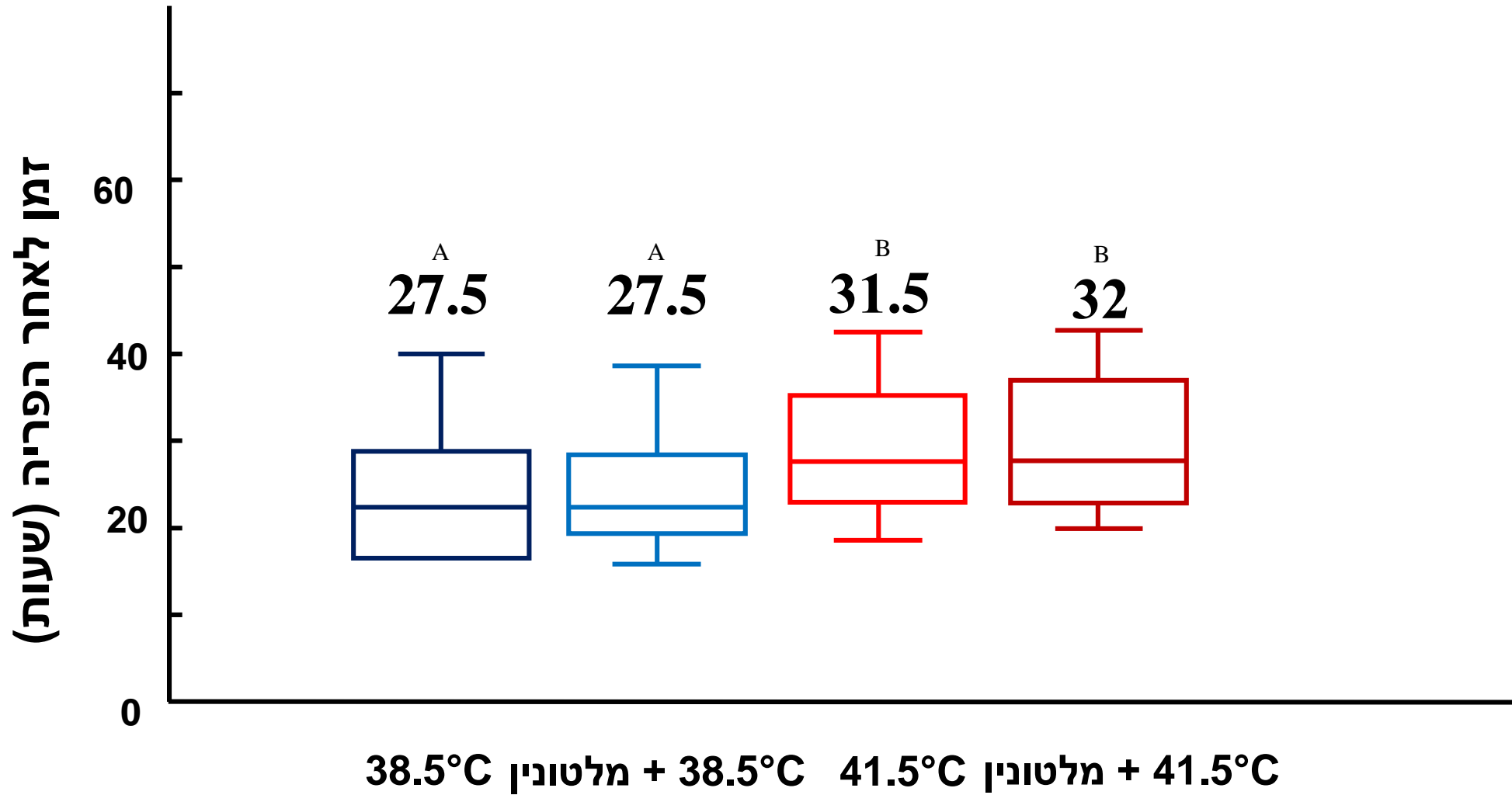
38.5°C; 5% CO<sub>2</sub>; 5% O<sub>2</sub>



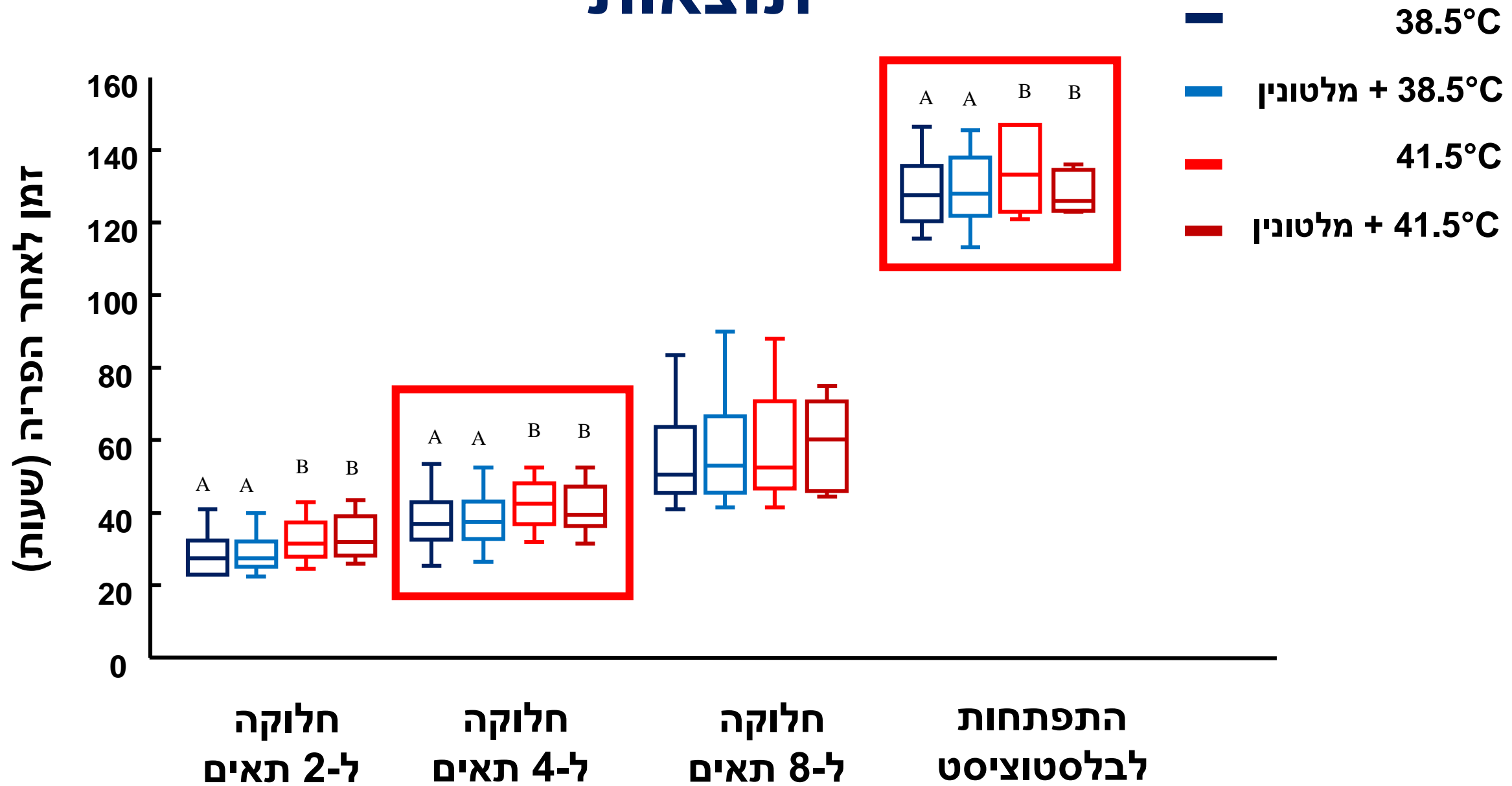
# תוצאות



# חלוקה ל-2 תאים



# תוצאות

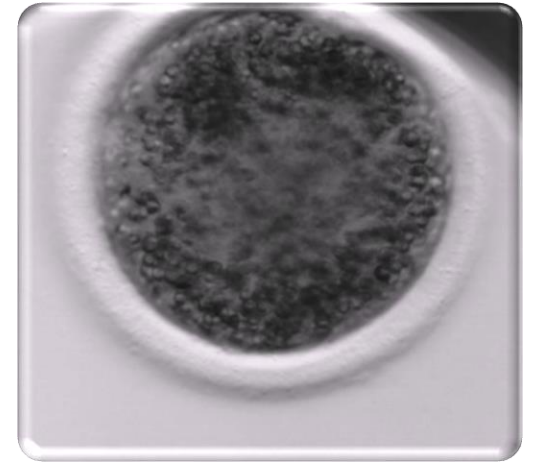
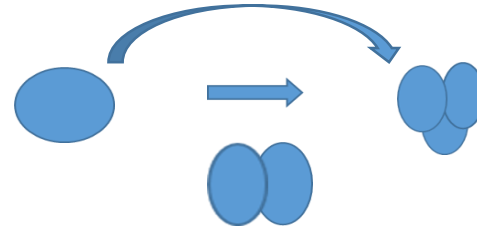


# חלוקה ישירה

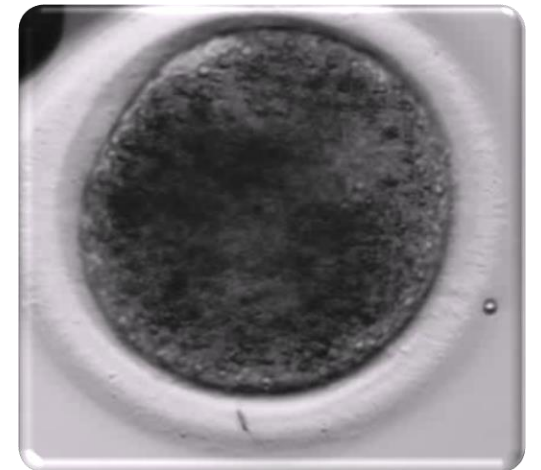
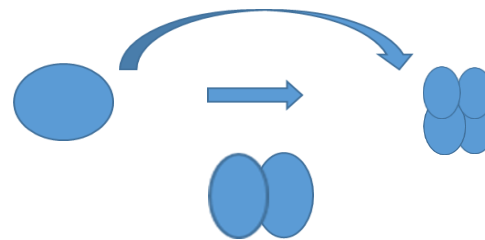
חלוקה תקינה ל-2 תאים



חלוקה ישירה  
ל-3 תאים



חלוקה ישירה  
ל-4 תאים

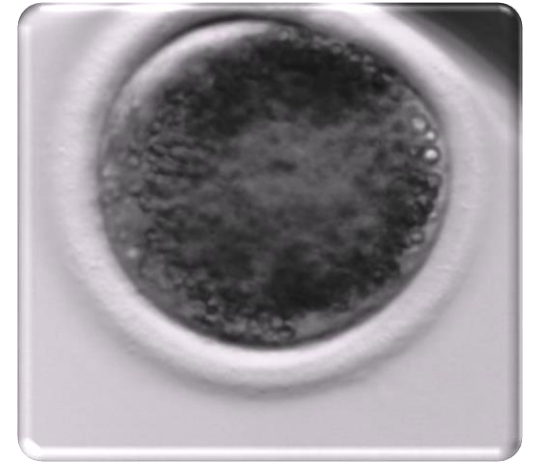
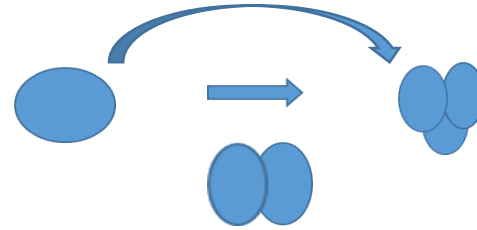


# חלוקה ישירה

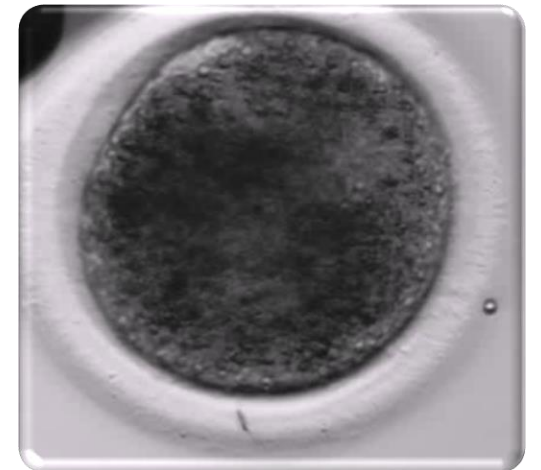
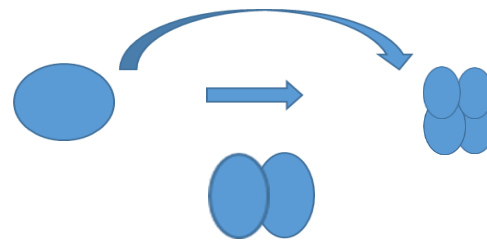
חלוקה תקינה ל-2 תאים



חלוקה ישירה  
ל-3 תאים



חלוקה ישירה  
ל-4 תאים

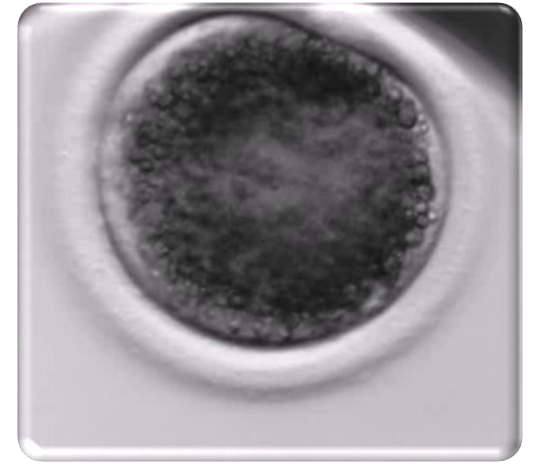
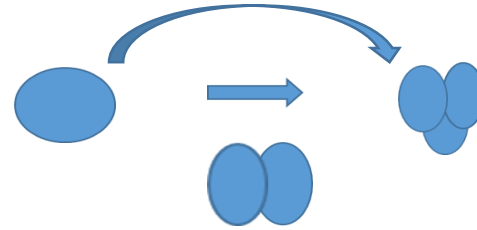


# חלוקה ישירה

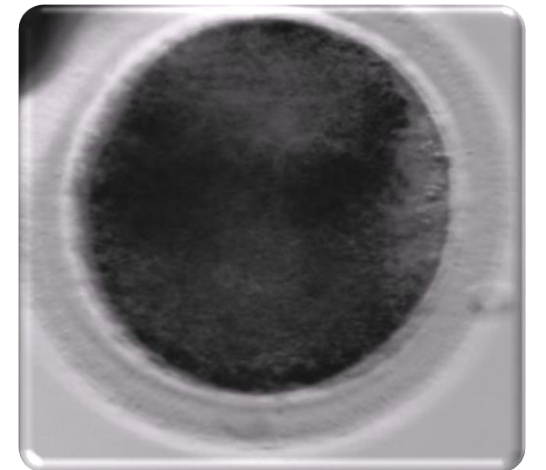
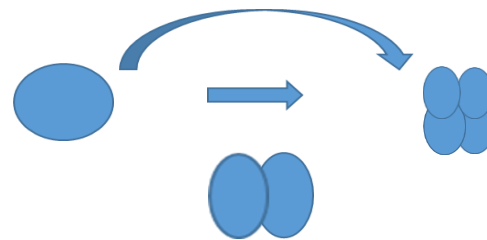
חלוקה תקינה ל-2 תאים



חלוקה ישירה  
ל-3 תאים

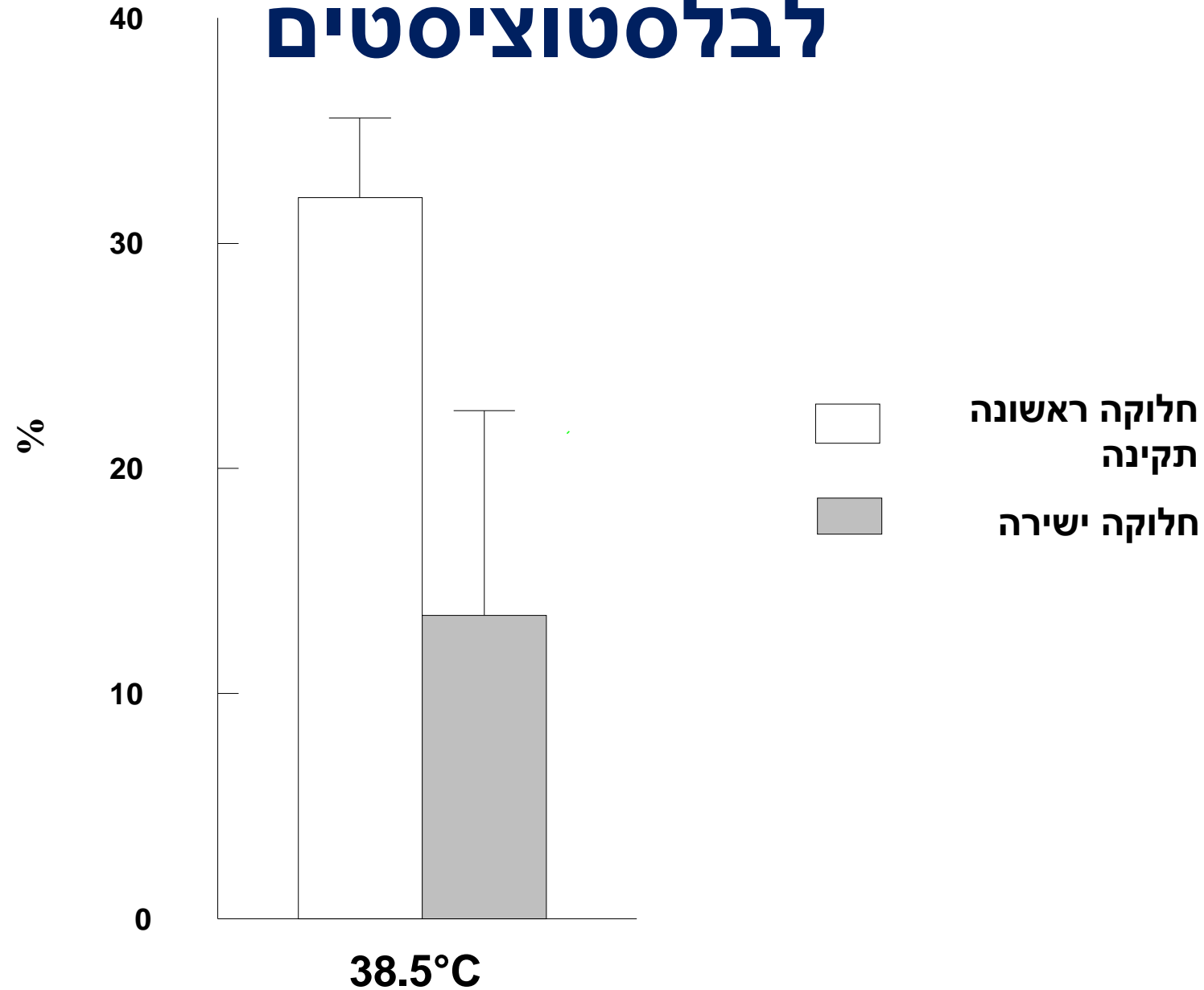


חלוקה ישירה  
ל-4 תאים



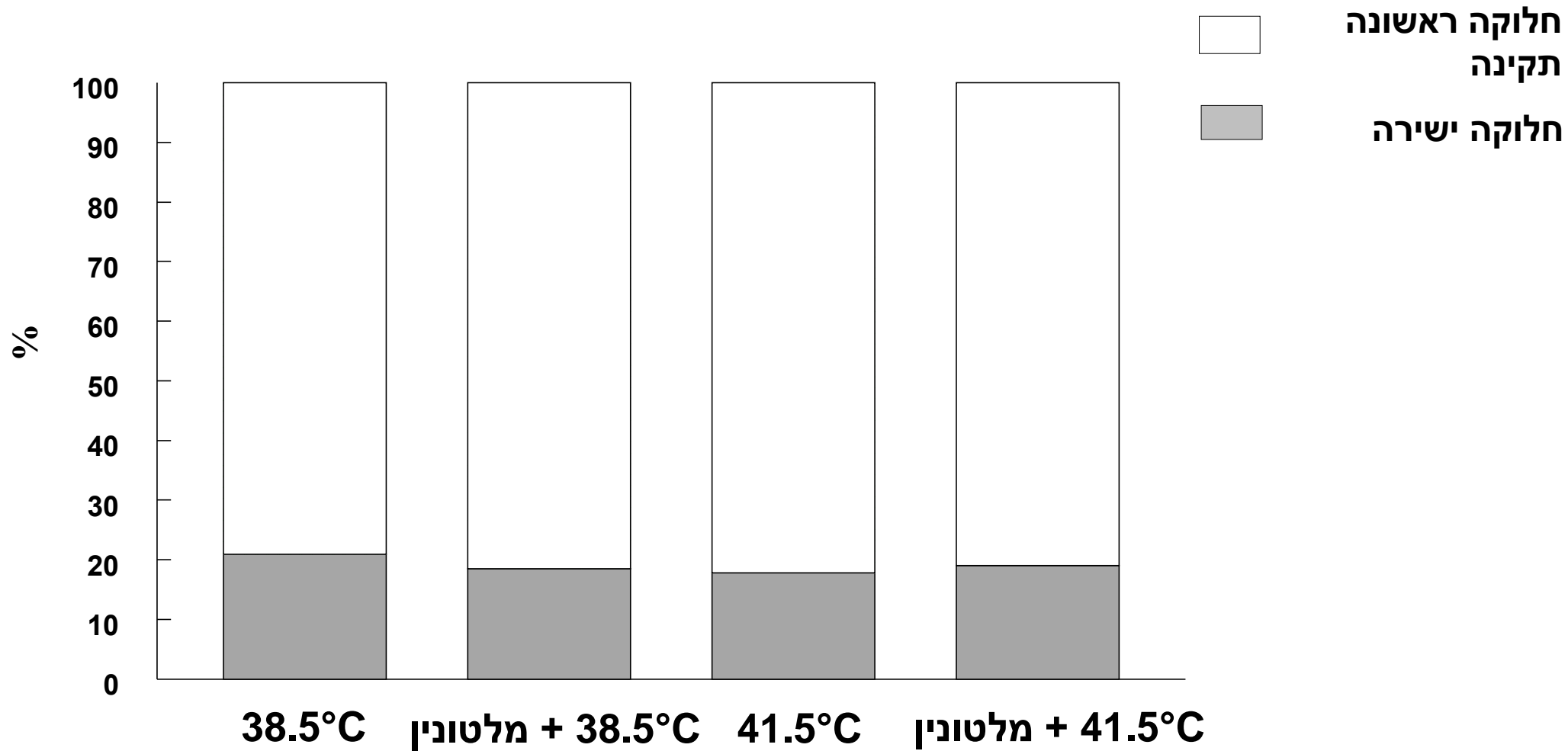
# קשר בין עוברי חלוקה ראשונה והתפתחות

## לבלסטוציסטים



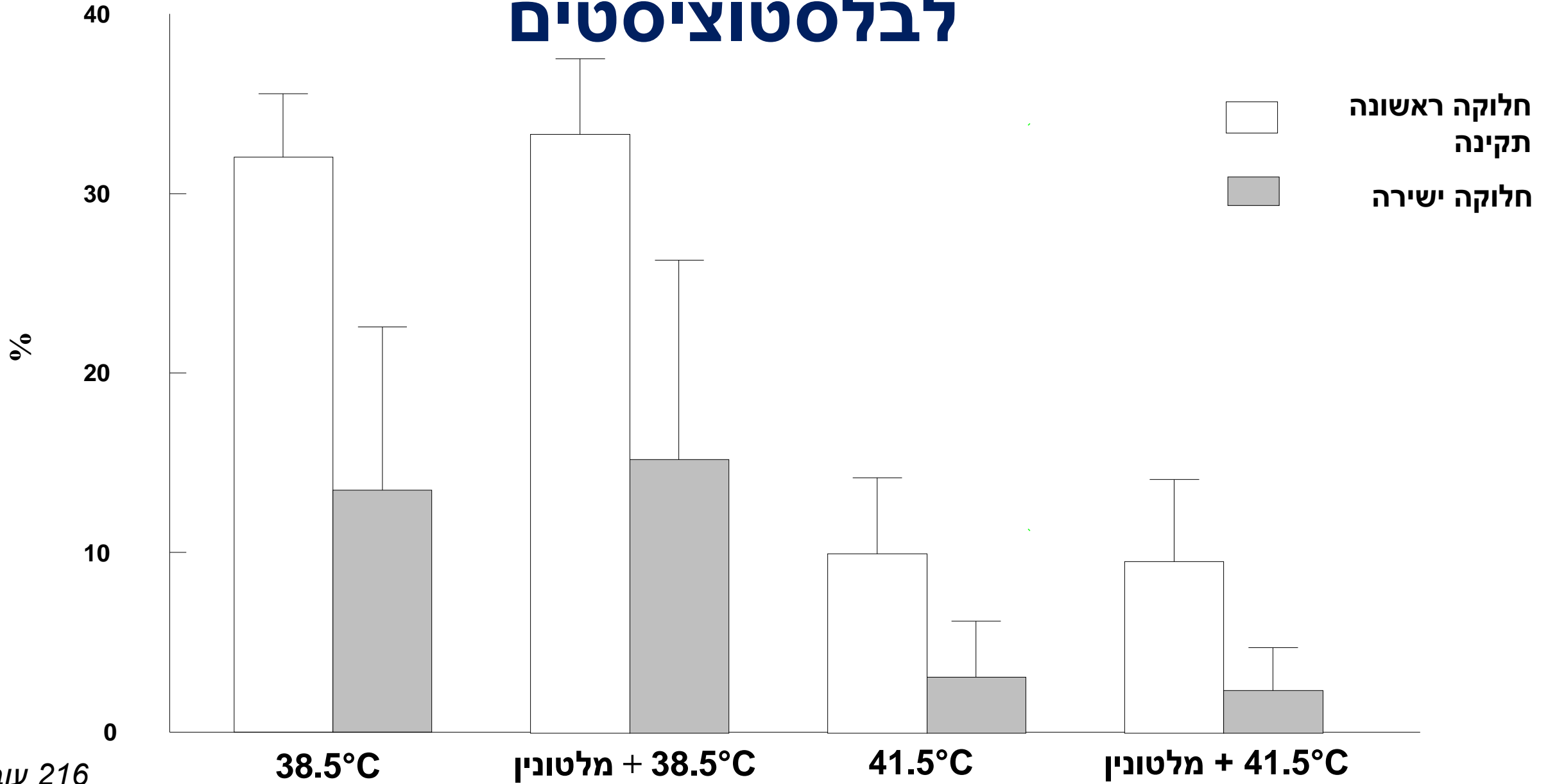


# חלוקה תקינה לעומת חלוקות ישירות



# קשר בין עוברי חלוקה ראשונה והתפתחות

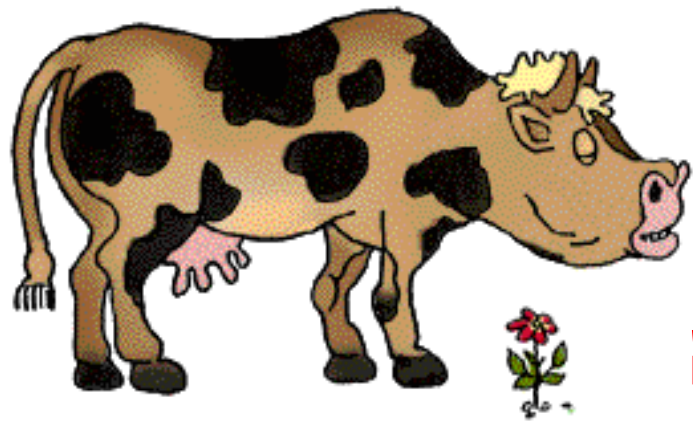
## לבלסטוציסטים



# סיכום

- ממצאי עבודה זו מאשרים כי **עומס חום** אכן **מעלה יצירת רדיקלים חופשיים** ע"י הביצית
- **מלטונין הוריד**, אך **לא מנע לחלוטין**, את ההשפעה המזיקה של **עומס החום** על הביצית כנראה במנגנון הקשור למצב חימצוני
- למרות הפעילות האנטיאוקסידטיבית של מלטונין שנצפתה בביציות **לא היתה השפעה על ההתפתחות העוברית ועל המורפוקינטיקה**
- נמצא שיעור של **עוברי חלוקה ישירה גבוה בבקר (20%) והתפתחות עוברית נמוכה בעוברים אלו ללא תלות בקבוצות הטיפול**

# תודה על ההקשבה



פרופ' צביקה רוט  
ד"ר דורית קלו  
אליסה קומסקי-אלבז  
נעמה סרבניק  
רותם ויינברגר  
עומר כוהנשטיים  
פז מנדלסון  
רון שרון

**מועצת החלב על קבלת המילגה**