

יעילות טיפול משולב של פרופילן גליקול וגליצרול על הסטטוס המטבולי של האימהות  
ושרידות העוברים בכבשות נושאות הריון מרובה עוברים

**The effect of combined treatment of propylene glycol and glycerol on  
the metabolic status of dams and survival of fetuses' in prolific ewes**

מוגשת להנהלת ענף בקר לחלב – ענף הצאן

**3. שמות השותפים למחקר**

**ד"ר עוזי מועלם** – הזנת מעלי גירה, המחלקה לחקר בקר וצאן, מינהל המחקר החקלאי, בית דגן – ניהול הניסוי, ניתוח נתונים.  
**מר תמיר אלון** – המחלקה לחקר בקר וצאן, מינהל המחקר החקלאי - ניהול וביצוע הניסוי.  
**מר אלכסנדר רוזוב** – המחלקה לחקר בקר וצאן, מינהל המחקר החקלאי - סיוע בביצוע הניסוי.

**4. תקציר**

אחד הקשיים הכרוכים בגידול כבשות מרובות ולדות הינה ההתמודדות עם "רעלת היריון". רעלת היריון נגרמת כתוצאה מחוסר יכולת הכבשה לספק את דרישותיה האנרגטיות המוגברות מן המזון, וכתוצאה מכך מתפתח בגופה מאזן אנרגיה שלילי המתבטא בין היתר בפירוק רקמות גוף. שכיחות המחלה נמצאת במתאם גבוה עם מספר העוברים, כאשר נמצא כי שכיחותה בכבשות אפק-אסף הנושאות יחידים או תאומים הייתה 0.5%, לעומת 5%, 11%, 25% ו-33% בשלושה, ארבעה, חמישה ושישה עוברים, בהתאמה. הטיפול הנפוץ במחלה הינו מתן חומרים גלוקוגנים, כאשר שניים מהם נפוצים במיוחד: פרופילן גליקול (PG) וגליצרול (GL). למרות השימוש הנפוץ ב-PG וב-GL, התועלת היחסית של השימוש בחומרים אלה אינה ברורה דיה, ואין מידע מבוסס על המינונים הדרושים. בסדרת עבודות מבוקרות שביצענו בשנים האחרונות נמצא כי האפקט של GL היה יותר פרו-גלוקוגני וה-PG נמצא כבעל אפקט יותר אנטיקטוגני. בעקבות ממצאים אלו נעשתה עבודה ראשונית נוספת שבחנה את השפעת טיפול משולב של PG ו-GL, שתוצאותיה לא ענו על הציפיות, ככל הנראה עקב שימוש במינונים יחסים לא מתאימים בין החומרים. לאור תוצאות אלה, מטרת הצעת המחקר הנוכחית הינה לבחון את השפעת מתן תמיסה משולבת של PG ו-GL ביחסים שונים על הסטטוס המטבולי של האימהות, ועל שרידות הטלאים. כמו כן בעבודה זו ננסה לראשונה לאפיין בהמלטה הבדלים בין טלאים שנולדו חיים לאלו שנולדו מתים. בשנה הראשונה ביצענו ניסוי עם 18

כבשות שחולקו לשלוש קבוצות טיפול בימים 133-135 להריון כדלקמן: (1) ביקורת - 110 מ"ל מים. (2) MIX1:1 - 214 מ"ל תמיסה משולבת PG ו- GL ביחס 50:50, בהתאמה. (3) MIX7:3 - 214 מ"ל תמיסה משולבת PG ו- GL ביחס 70:30, בהתאמה. נמצא כי הטיפולים המשולבים תרמו לשיפור משמעותי בשלושת היעדים העיקריים בטיפול בחומרים גלוקוגניים: עלייה ברמת הגלוקוז ולירידה ברמת ה- BHBA ו- NEFA. שני הטיפולים המשולבים העלו את ריכוז הגלוקוז בכ- 20%, הורידו את ריכוזי ה- BHBA בכ- 45% והורידו את ריכוזי ה- NEFA בכ- 48%, יחסית לקבוצת הביקורת. כמו כן ריכוזי האינסולין היו גבוהים יותר בקבוצת ה- MIX7:3 מאשר בקבוצת הביקורת, אבל לא היו שונים מקבוצת MIX1:1. לסיכום, התערובת של 2 הפרהקורטורים הגלוקוגניים הנפוצים פרופילן גליקול וגליצרול תרמה להשגת שלושת היעדים באופן משמעותי, ויכולה לשמש לטיפול יעיל ברעלת הריון בכבשים. כמו כן, לקחנו דגימות דם מן הטלאים, חיים או מתים, מיד לאחר ההמלטה, וביצענו ניתוח של הממצאים לפי גודל השגר. נמצאו הבדלים בריכוזי ה- NEFA, לקטט וברזל בין טלאים משגרים שונים. במהלך שנה זו רכשנו מכשיר אולטרסאונד דופלר, בנינו מתקן ייחודי לעבודה זו, עברנו הדרכה ולימוד של מעקב אחר עוברים ברחם אמם בשליש האחרון של ההריון. לאחר לימוד המעקב באולטרסאונד ביצענו ניסוי ראשון בו עקבנו אחר עוברים ברחם אמם, מיום 100 להריון ועד המלטה. בעבודה זו ביצענו סקירת באולטרסאונד ומדידת הדופק של העוברים והאימהות אחת ל- 10 ימים, החל מיום 85~ ועד ליום 138 להריון, והחל מיום 138 ועד להמלטה המדידות בוצעו כל יום. עבודת מחקר זו הייתה ראשונית ובה נערך מעקב באולטרסאונד אחר עוברים בשליש האחרון של ההריון ועד להמלטה. תוצאות עבודה זו נותחו לפי גודל השגר ולפי אחוז הזכרים בשגר. בעבודה זאת נמצא כי יש שינוי מגמתי בקצב הלב של הכבשות והעוברים לאורך השליש האחרון של ההריון. בנוסף, נמצא כי יש השפעה ליחס הזכרים בשגר על קצב הלב של הכבשות בתקופה זו. על אף שלא נמצאו הבדלים סטטיסטיים, נראה כי עלייה בגודל השגר בעלת מתאם שלילי עם קצב הלב של העוברים. המצב המטבולי של הכבשות הושפע לרעה כתוצאה מעלייה בגודל השגר, אך לא נראתה מגמה דומה ברורה במצבם המטבולי של הוולדות. במחקר נמשך ננסה בשיטות נוספות לאפיין עוברים בסוף ההריון, שלהם סיכוי גבוה יותר למות עד מועד ההמלטה. בשנה השלישית למדנו התנסינו ופיתחנו שיטה לשאיבת נוזל מכל העוברים בתוך הרחם באופן פרטני. בכוונתנו להשלים את השאיבה ממספר מספק של כבשות על מנת לבצע אנליזה מטבולומית לרקמות אלה. חלק זה של העבודה דרש רכישת מיומנות בפרוצדורה חדשה שלא נוסתה בארץ, וידרוש משאבים גדולים על מנת להשלים את האנליזות בעזרת תקציבי מחקר ממקורות אחרים. תוצאות עבודת מחקר זו פורסמו עד כה בשני מאמרים בספרות הבינלאומית.

## 5. תיאור הבעיה הנחקרת ופערי הידע בנושא

על פי נתוני השנתון הסטטיסטי לישראל (2018) עדר הכבשים בישראל מנה בשנת 2017 כ- 520 אלף פרטים בוגרים. מכירת טלאים הינה מקור ההכנסה העיקרי מגידול כבשים בישראל, הן בעדרי כבשים לבשר והן בעדרי כבשים לחלב. בשל כך, עברו חלק ממשקי הצאן בארץ במהלך השנים מגידול כבשת האוּוּסי בעלת הוולדנות הנמוכה של כ- 1.1 טלאים להמלטה, לגידול זני כבשות בעלי ולדנות גבוהה יותר כאספ ומכלואיו, כאשר הוולדני מכולם הוא הזן אפק-אספ בעל ולדנות ממוצעת של 2.5 טלאים להמלטה. כמו כן הוטמעו בעדרי הצאן ממשקי רבייה מתקדמים המגבירים את הוולדנות, וביניהן מתן טיפולים הורמונאליים ומשטרי הזנה המגבירים בעת הייחום את מספר הביציות החורגות מן השחלה.

אחד הקשיים הכרוכים בגידול כבשות מרובות ולדות הינה ההתמודדות עם "רעלת היריון", השכיחה יותר בהריון מרובה עוברים. רעלת היריון הינה הפרעה מטבולית שכיחה בקרב כבשות הרות, ובמיוחד בששת השבועות האחרונים להריון. שכיחות המחלה נמצאת במתאם ישיר עם מספר העוברים ברחם הכבשה, כאשר נמצא כי שכיחות המחלה בכבשות אפק-אספ הנושאות יחידים או תאומים הייתה 0.5%, בעוד ששכיחות המחלה בכבשות הנושאות שגר של שלושה, ארבעה, חמישה ושישה עוברים הייתה 5%, 11%, 25% ו-33%, בהתאמה (Zamir et al., 2009).

רעלת היריון נגרמת כתוצאה מחוסר יכולת הכבשה לספק את דרישותיה האנרגטיות המוגברות מן המזון, כמקור בלעדי. כתוצאה מכך מתפתח בגופה מאזן אנרגיה שלילי (West, 2006; Harmeyer and Schlumbohm, 1996), המתבטא בין היתר בפירוק רקמות גוף על מנת להשלים את המחסור באנרגיה. כ- 60% מגדילת העובר מתרחשת בשליש האחרון של ההריון, וההאצה בקצב גדילת העוברים לקראת סוף ההריון גורמת לדרישה מוגברת של אנרגיה. הדרישות האנרגטיות של כבשות הנושאות תאומים ושלישיות הינן כ- 180% ו-240%, בהתאמה, בהשוואה ליחידים (Pugh and Baird, 2012). בסוף ההריון משקל יחידת הרחם יכול להגיע לכדי 27% ממשקל הכבשה (Robinson et al., 1977). במצב זה דרישות האנרגיה של העוברים והשיליה יכולים להגיע לכדי 45% מאספקת הגלוקוז, ו-72% מאספקת חומצות האמינו של האם (Bell, 1995; Marteniuk and Herdt, 1988). בנוסף, נפח הרחם הגדל במהלך ההריון, גורם לצמצום נפחה של הכרס, וזה מוביל לירידה בצריכת המזון של הכבשה ההרה, ולהחמרה במאזן האנרגיה השלילי שלה (Andrews, 1997). ללא טיפול מתאים, כבשות הלוקות ברעלת היריון עלולות להפיל או להמליט ולדות מתים, ובמקרים חמורים אף לגרום למות הכבשה. אירועים אלה פוגעים כמובן בכלכלת ורווחיות הענף (Scott et al., 1995; Gootwine et al., 2007).

מאחר ולמעלי גירה יכולת מועטה לספוג גלוקוז, הם תלויים בתוצרי הפירוק של תהליכי התסיסה בכרס. בשל כך, כבר בשנות החמישים של המאה הקודמת נעשו מאמצים למציאת

חומרים גלוקוגנים לטיפול ברעלת היריון. המטרה הייתה לאתר חומרים זולים יחסית שאינם עובדים מודיפיקציה ע"י המיקרופלורה בכרס, או שהופכים לתוצרים בלתי רצויים עקב חמצון. מספר חומרים נבחנו, ושניים מהם נמצאו כאפקטיביים: פרופילן גליקול (PG) וגליצרול (GL). בתנאי חסר של מטבוליטים מהכרס, מטרת הטיפול בחומרים גלוקוגניים אלה הינה להגביר את הגלוקונואוגנזה בכבד וע"י כך להעלות את אספקת הגלוקוז לחיה, ובכך להפחית את פירוק רקמות שומן (Emery et al., 1992).

למרות השימוש הנפוץ ב-PG וב-GL בהזנת כבשות בסוף ההיריון ובטיפול בכבשות הלוקות ברעלת היריון, הרי התועלת היחסית של השימוש בחומרים אלה אינה ברורה דיה. בנוסף, אין מידע מבוסס על המינונים הדרושים לטיפול בכבשות, הן כטיפול מניעתי והן כטיפול במצב של תחלואה. בעבודות מבוקרות שביצענו בשנים האחרונות נמצא כי PG ו-GL הינם בעלי מטבוליזם שונה ובעלי השפעה שונה על ייצור הגלוקוז ועיכוב ייצור גופי הקטו, כאשר נמצא כי PG הינו בעל אפקט יותר אנטיקטוגני ואילו האפקט של GL הינו יותר פרו-גלוקוגני. בנוסף, נמצא כי השפעתם הינה קצרת טווח (עד כשש שעות מההגמעה). בעקבות ממצאים אלו נעשתה עבודה ראשונית נוספת שבחנה את השפעת טיפול משולב של PG ו-GL, במטרה לנצל את האפקטים החיוביים של כל אחד מן החומרים יחד. עם זאת, תוצאות עבודה זו לא ענו על הציפיות, ולא נצפה אפקט משמעותי כלל לטיפולים. זאת, ככל הנראה עקב שימוש במינונים יחסים לא מתאימים. בנוסף לא נעשה ניסוי ארוך טווח שבחן את השפעות הטיפולים לאורך תקופה ועקב גם אחר שרידות הטלאים עד ובזמן ההמלטה, ולכן נדרש מחקר נוסף לברר את האפקט היחסי והמשולב של 2 חומרים גלוקוגניים אלה.

## 6. מטרת המחקר

בחינת השפעת מתן חומרים גלוקוגנים על המאזן המטבולי ושרידות העוברים בכבשות אפקט אספקת הנושאות היריון מרובה עוברים.

### מטרות ספציפיות

- 1) בחינת השפעת מתן תמיסה משולבת של פרופילן גליקול וגליצרול ביחסים שונים על השתנות ריכוזי מטבוליטים ואינסולין, מעקב אחר שרידות הטלאים בהמלטה ואפיון הבדלים בין טלאים שנולדו חיים לאלו שנולדו מתים.
  - 2) בחינת טיפול ממושך בתמיסה גלוקוגנית על התחלואה ברעלת היריון ושרידות הטלאים במהלך סוף ההיריון וההמלטה.
- הערה:** בעבודה מחקר זו יינתן דגש מיוחד ללימוד נושא תמותת העוברים בסוף ההיריון וסיבותיה. לצורך כך נרכוש מכשיר אולטרסאונד דופלר ונעבור הכשרה ולימוד של המאפיינים

השונים בין עוברים ששורדים עד ההמלטה, לבין עוברים שמאבדים את חיוניותם בשלבי ההריון האחרונים. נושא זה לא נחקר בארץ, וגם לא בעולם, בכבשים ולדניות.

## 7. תיאור ביצוע המחקר

### שנה ראשונה

המחקר בוצע בדיר הכבשים של מכון וולקני בבית דגן. בשנה הראשונה ביצענו ניסוי עם 18 כבשות בסוף ההריון הנושאות לפחות שני עוברים עפ"י בדיקת אולטרסאונד שעשינו כ- 35 ימים לאחר ההרבעות, ובעלות ריכוזים גבוהים אך לא קליניים ( $0.5-1.6 \text{ mg/dL}$ ) של גופי קטו. בניסוי הראשון, 18 כבשות חולקו לשלוש קבוצות טיפול ע"פ מספר עוברים צפוי, מספר המלטה, משקל גוף, BCS (סקלה של 1-5; Jefferies, 1961), ריכוזי BHBA וגלוקוז שנמדדו כיומיים לפני מועד הניסוי. לכבשות הוכנסו קטטרים לזריד הצוואר ביממה לפני מתן הטיפולים. הטיפולים ניתנו בממוצע בימים 133-135 להריון. הטיפולים יהיו כדלקמן: (1) ביקורת- 110 מ"ל מים.

(2) 214 מ"ל תמיסה משולבת PG ו- GL ביחס 50:50 (MIX1:1), בהתאמה.

(3) 214 מ"ל תמיסה משולבת PG ו- GL ביחס 70:30 (MIX7:3), בהתאמה.

הטיפולים ניתנו בשעה 7:00. ביום הניסוי לקחנו שתי דגימות דם לפני מתן הטיפול בהפרש של 15 דקות (06:30 ו- 06:45), ולאחר הטיפול לקחנו דגימות דם החל מ- 08:00 אחת לשעה למשך 15 שעות. בדגימות דם אלו ערכנו אנליזות לגלוקוז, BHBA, חומצות שומן בלתי מאוסטרות (NEFA), לקטט, אינסולין, טריגליצרידים, ולאנזימים LDH ו- AST. חלק זה של הניסוי בוצע עפ"י פרוטוקול דומה לזה שבוצע בעבר במעבדנו (Alon, 2019).

נערך מעקב בהמלטה אחר שרידות הטלאים, ונלקחו דגימות דם מטלאים שנולדו חיים, ומטלאים שאנו משערים שעל פי מספר סימנים ויזואליים מתו זמן קצר לפני מועד ההמלטה. האבחנה התבצעה לפי מצב הגופה (קיומם של סימני ריקבון), מידת שקיעת העיניים, צפדת מוות (*Rigor Mortis*), משקל ואורך הטלה. בנוסף, כ- 24 שעות לאחר ההמלטה הכבשות נשקלו ונקבע מצבן הגופני.

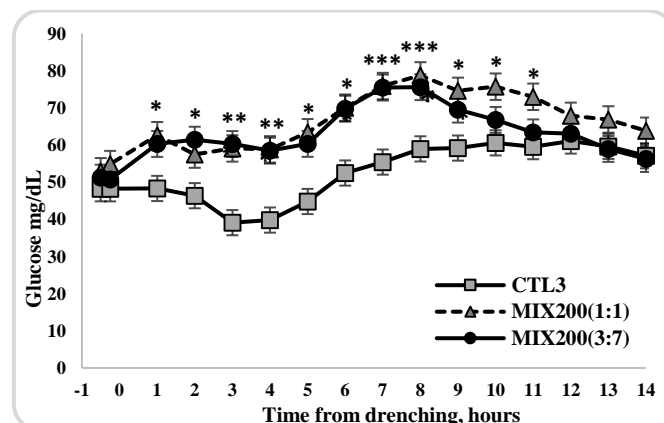
## תוצאות ניסוי הראשון

### טבלה מס' 1. ריכוזי מטבוליטים, אינסולין ואנזימים בפלסמה

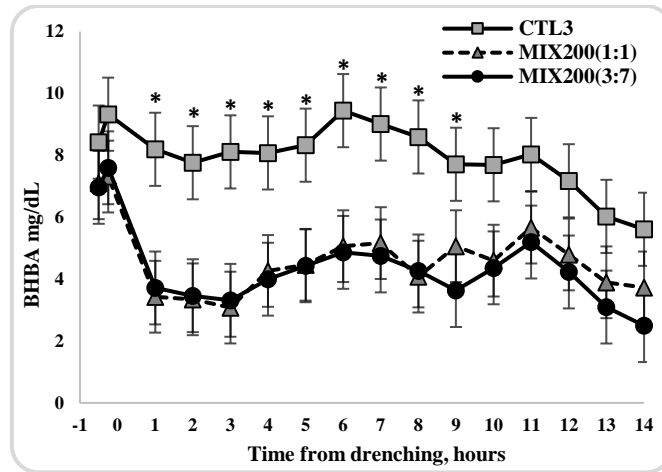
	Treatments <sup>1</sup>				P-value		
	CTL	MIX1:1	MIX7:3	SEM	Trt	Time	Trt*Time
Glucose, mg/dL	54.6 <sup>b</sup>	64.3 <sup>a</sup>	66.0 <sup>a</sup>	2.5	0.01	<0.001	NS
BHB, mg/dL	7.7 <sup>a</sup>	4.4 <sup>b</sup>	4.1 <sup>b</sup>	1.0	0.03	<0.001	NS
NEFA, $\mu$ Eq/L	573.7 <sup>a</sup>	227.8 <sup>b</sup>	244.3 <sup>b</sup>	108.5	0.07	<0.001	0.001
Lactate, mmol/L	0.8 <sup>b</sup>	1.5 <sup>a</sup>	1.4 <sup>a</sup>	0.09	<0.001	<0.001	0.007
TG <sup>2</sup> , mg/dL	14.4 <sup>b</sup>	122.8 <sup>ab</sup>	310.4 <sup>a</sup>	65.1	0.02	<0.001	0.001
Insulin, $\mu$ IU/mL	29.7 <sup>b</sup>	47.1 <sup>ab</sup>	65.9 <sup>a</sup>	9.4	0.05	<0.001	0.05
LDH, U/L	303.4 <sup>ab</sup>	288.2 <sup>b</sup>	333.6 <sup>a</sup>	14.9	0.12	0.006	N.S
AST, U/L	64.4	61.2	66.4	5.9	0.82	<0.001	N.S

ניתן לראות מן הטבלה ששני הטיפולים העלו את ריכוז הגלוקוז בכ- 20% (תרשים מספר 1) והורידו את ריכוזי ה- BHBA בכ- 45% (תרשים מספר 2). כמו כן ריכוזי ה- NEFA היו נמוכים בכ- 48%, יחסית לקבוצת הביקורת (תרשים מספר 3). כמו לא נמצאו הבדלים בריכוזי ה- לקטט בין הטיפולים בהשוואה לקבוצת הביקורת (תרשים מספר 4). ריכוזי ה- TG, האינסולין (תרשים מס' 5) וה- LDH היו גבוהים יותר בקבוצת ה- MIX7:3 מאשר בקבוצת הביקורת, אבל לא היו שונים מקבוצת MIX1:1.

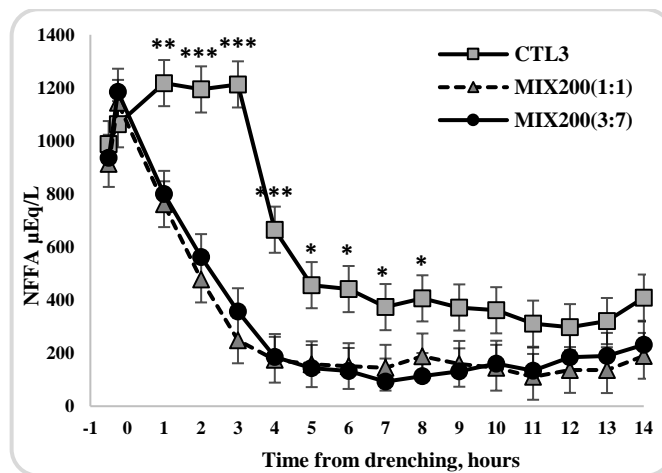
### תרשים מס' 1. ריכוזי גלוקוז לפי טיפולים



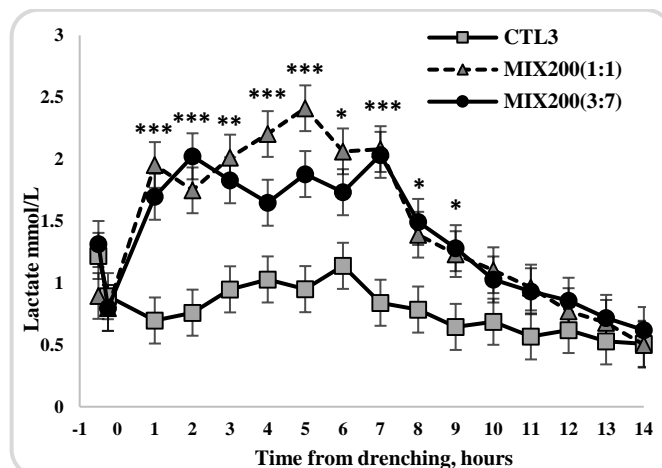
תרשים מס' 2. ריכוזי BHBA לפי טיפולים



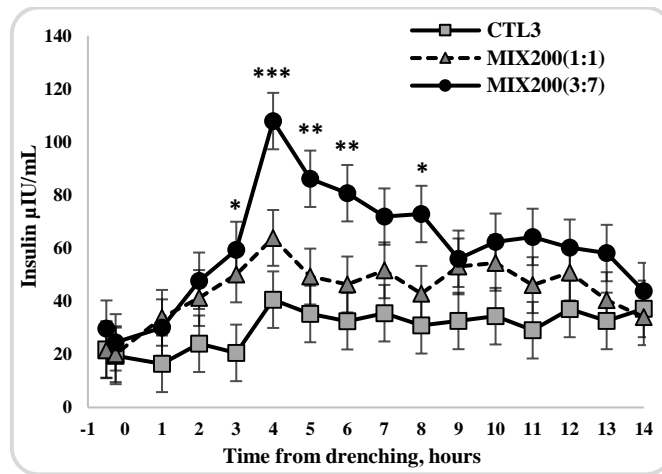
תרשים מס' 3. ריכוזי NEFA לפי טיפולים



תרשים מס' 4. ריכוזי לקטט לפי טיפולים



## תרשים מס' 5. ריכוזי אינסולין לפי טיפולים



מתוצאות ניסוי זה ניתן ללמוד כי 2 הטיפולים המשולבים תרמו לשיפור משמעותי בשלושת היעדים העיקריים בטיפול בחומרים גלוקוגניים: עלייה ברמת הגלוקוז ולירידה ברמת ה- BHBA - NEFA. מתרשים מספר 1 ניתן לראות כי ריכוז הגלוקוז היה גבוה קצת יותר בקבוצת ה- MIX7:3 מאשר בקבוצת ה- MIX1:1, משעה 9 לאחר מתן הטיפול. כמו כן ריכוז האינסולין היה גבוה יותר בטיפול ה- MIX7:3 מה שיכול לתרום לניצולת גבוהה יותר של הגלוקוז ע"י הרקמות ולצמצום פירוק רקמות הגוף. ריכוזי ה- TG היו גבוהים יותר בטיפול ה- MIX7:3 לעומת MIX1:1 וזאת ככל הנראה נובע מגליצרוֹל המוסף בריכוזים גבוהים יותר בטיפול זה. לסיכום, התערובת של 2 הפרהקורסורים הגלוקוגניים הנפוצים, פרופילן גליקול וגליצרוֹל ביחס של 7:3, בהתאמה, תרמה לתוצאות טובות יותר באופן מינורי לעומת 1:1. התערובת של 2 החומרים תרמה להשגת 2 המטרות, העלאת רמת הגלוקוז והפחתת רמת ה- BHBA, מה שלא התקבל כאשר החומרים ניתנו באופן נפרד (Alon et al., 2020).

בניסוי זה דגמנו דם מן גם מן הטלאים מיד לאחר ההמלטה ובצענו מספר אנליזות. את הניתוח עשינו לפי גודל השגר, כפי שמופיע בטבלה מספר 2.



טבלה מס' 2. ריכוזי מטבוליטים, אינסולין ואנזימים בדם טלאים לאחר ההמלטה לפי גודל השגר

	<i>Litter size</i>			<i>P</i> -value
	1-2	3	4-5	
Glucose	61.6	65.8	71.1	0.72
BHBA	0.94	0.86	0.65	0.39
NEFA	608.5 <sup>a</sup>	396.6 <sup>b</sup>	447.2 <sup>ab</sup>	0.09
Insulin	37.8	36.5	23.2	0.47
Lactate	7.6 <sup>b</sup>	9.8 <sup>ab</sup>	12.2 <sup>a</sup>	0.02
TG	38.5	26.1	27.2	0.53
AST	69.9	50.6	32.0	0.81
LDH	576.4	438.4	555.3	0.03
Iron	65.3 <sup>a</sup>	50.6 <sup>b</sup>	62.6 <sup>a</sup>	0.004
ALP	1302.8 <sup>a</sup>	950.9 <sup>b</sup>	1130.9 <sup>a</sup>	0.30
BILD	3.06	3.74	3.43	0.47
BILT	4.9	5.1	4.1	0.78

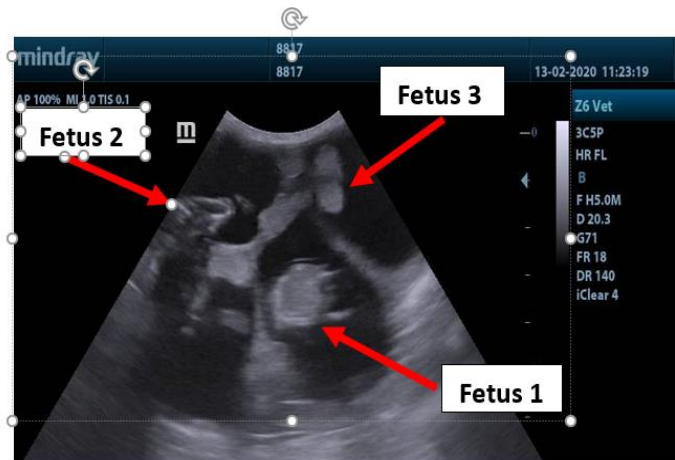
נמצאו הבדלים במספר מטבוליטים בפלסמה כתלות בגודל השגר, כאשר הבדלים מובהקים נמצאו בריכוזי ה-NEFA, ברזל ולקטט.

### שנה שניה + שלישית

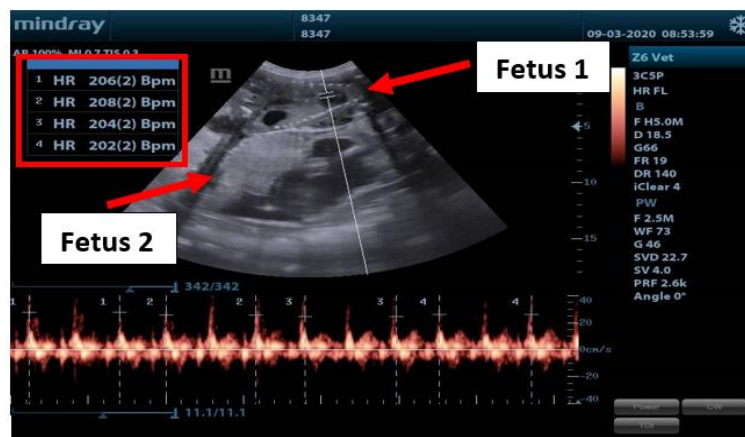
במהלך שנה זו רכשנו מכשיר אולטרסאונד דופלר, בנינו באופן מיוחד לניסוי מתקן ייחודי שיאפשר עבודה מאומצת במשך מספר שעות של סריקה באולטרסאונד של ברחם. לעבודה זו, עברנו הדרכה ולימוד של מעקב אחר עוברים ברחם אמם בשליש האחרון של ההריון, כפי שניתן לראות בתמונות הבאות.



סקירת ברחם באולטרסאונד



Fetus identification (57 DIP).



Fetus HR measurement (85 DIP).

לאחר לימוד והכשרה של מעקב באולטרסאונד דופלר, ביצענו ניסוי ראשון בו עקבנו אחר עוברים ברחם אמם, מיום 100 להריון ועד המלטה.

**מטרת המחקר בשנה השנייה והשלישית** - מעקב אחר קצב הלב, שרידות העוברים והמצב המטבולי של הכבשות בשליש האחרון של ההריון ושל הוולדות בהמלטה, על מנת לאפיין את המועד ואולי הסיבות לתמותה חלקית של השגר.

**חומרים ושיטות** - העבודה נערכה בדיר המחקר של מכון וולקני. לעבודה זו נבחרו 24 כבשות הרות בשני מקבצים (12 כבשות בכל מקבץ) שנשאו לפחות 2 עוברים ע"פ סריקת אולטרסאונד שנערכה ביום 60~ להריון. סקירת אולטרסאונד ומדידת הדופק של העוברים והאימהות בוצעו אחת ל- 10 ימים, החל מיום 85~ במקבץ הראשון, ויום 120~ במקבץ השני, ועד ליום 138 להריון. החל מיום 138 ועד להמלטה בוצעו המדידות כל יום. בכל אחד ממועדי הסקירות

ובמועד ההמלטה נלקחו דוגמאות דם מהאימהות, בנוסף, במועד ההמלטה נלקחו דוגמאות דם מהוולדות החיים והמתים. בדגימות דם אלה נקבעו ריכוזי הגלוקוז, BHBA, חומצות שומן בלתי מאוסטרות (NEFA), אינסולין, לקטט, טריגליצרידים, ברזל והאנזימים אספרטט אמינו טרנספראז (AST), לקטט דהידרוגנאז (LDH), ופוספטאזה בסיסית (ALP). הכבשות נשקלו ומצבן הגופני הוערך במועד הסקירה הראשונה וכ- 24 שעות לאחר ההמלטה. לאחר ההמלטה אופיינו הסימנים הפיסיולוגים של עוברים שמתו בשלבים שונים של ההריון.

### תוצאות

ממצאי עבודה זו נותחו לפי גודל השגר (חיים + מתים), לפי חלוקה ל- 3 קטגוריות: (1 או 2 טלאים, 2) 3 טלאים, 3) 4 או 5 טלאים.

בנוסף, מאחר וניכר היה כי מספר הטלאים הזכרים בשגרים בהן התרחשה תמותה היה גבוה יותר, עשינו ניתוח גם לפי שיעור הזכרים בשגר. בסקירה ספרותית שעשינו נמצא כי גם בבני אדם בהריונות של תאומים, שיעור הסיבוכים השונים גדול יותר ככל ששיעור הזכרים גבוה יותר.

התוצאות מוצגות ראשית לפי גודל השגר, ולאחר מכן לפי אחוז הזכרים.

### לפי גודל שגר

**טבלה מספר 3.** קצב לב של העוברים והאימהות מיום 85 או 138 להריון.

	Litter size			<i>P-value</i>
	1 + 2	3	4 + 5	
Fetus HR DIP>138	140.2	123.5	130.2	0.32
Fetus HR DIP>85	158.1	141.5	132.6	0.22
Dam HR DIP>138	128	125	127.7	0.83
Dam HR DIP>85	124.2	123.4	123.6	0.98

**טבלה מספר 4.** ריכוז מטבוליטים ואנזימים בדם האימהות.

	Litter size			<i>P-value</i>
	1 + 2	3	4 + 5	
Glucose	51.2 <sup>a</sup>	49.8 <sup>a</sup>	43.6 <sup>b</sup>	0.009
BHBA	5.7 <sup>b</sup>	7.3 <sup>a</sup>	11.3 <sup>a</sup>	<.0001
NEFA	637.4 <sup>b</sup>	706.7 <sup>a</sup>	945.8 <sup>a</sup>	0.0002
Insulin	65.7 <sup>a</sup>	38.7 <sup>b</sup>	28.8 <sup>b</sup>	0.0009
Lactate	0.70	0.65	0.71	0.69
TG	29.1 <sup>a</sup>	22.3 <sup>b</sup>	20.1 <sup>b</sup>	0.02
AST	63.1	62.9	59.0	0.61
LDH	281.5	296.6	280.1	0.49
Iron	27.1	29.1	28.0	0.33
ALP	57.7	57.2	50.1	0.49
BILD	1.44	1.60	1.97	0.32
BILT	1.03 <sup>b</sup>	0.98 <sup>b</sup>	2.10 <sup>a</sup>	0.07

**טבלה מספר 5.** ריכוז מטבוליטים ואנזימים בדם הוולדות מיד לאחר ההמלטה

	Litter size			<i>P-value</i>
	1 + 2	3	4 + 5	
Glucose	61.6	65.8	71.1	0.72
BHBA	0.94	0.86	0.65	0.39
NEFA	608.5 <sup>a</sup>	396.6 <sup>b</sup>	447.2 <sup>ab</sup>	0.09
Insulin	37.8	36.5	23.2	0.47
Lactate	7.6 <sup>b</sup>	9.8 <sup>ab</sup>	12.2 <sup>a</sup>	0.02
TG	38.5	26.1	27.2	0.53
AST	69.9	50.6	32.0	0.81
LDH	576.4	438.4	555.3	0.03
Iron	65.3	50.6	62.6	0.004
ALP	1302.8 <sup>a</sup>	950.9 <sup>b</sup>	1130.9 <sup>a</sup>	0.30
BILD	3.06	3.74	3.43	0.47
BILT	4.9	5.1	4.1	0.78

## לפי יחס הזכרים בשגר

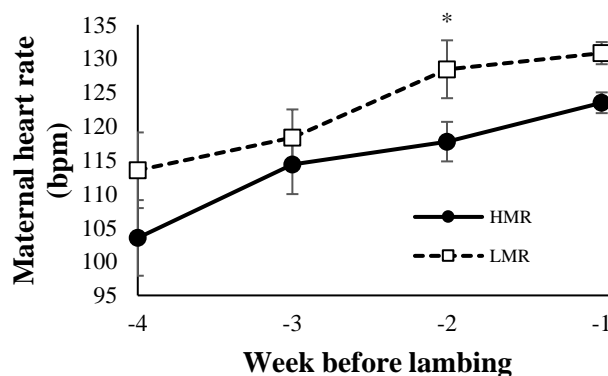
**טבלה מספר 6.** קצב לב של העוברים והאימהות במהלך ההריון וריכוז מטבוליטים ואנזימים בדם

האימהות לפי שיעור הזכרים בשגר.

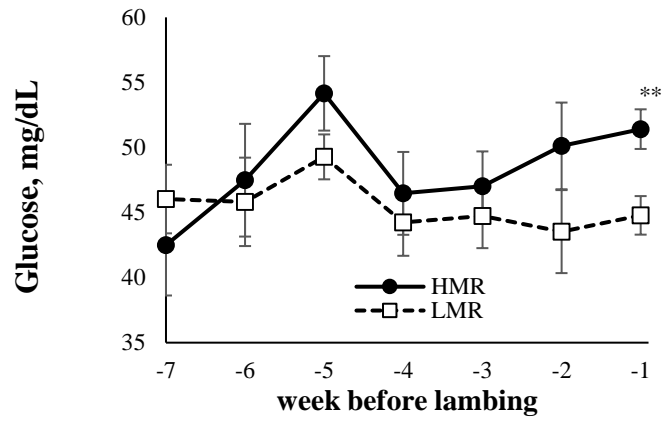
Parameter	Male ratio*		SEM	P-value
	LMR	HMR		
Dam HR DIP $\geq 110$	133.3	121.8	3.3	0.03
Fetus HR DIP $\geq 80^\dagger$	148.4	150.6	2.5	0.58
Dam HR DIP $\geq 138^\ddagger$	132.3	123.8	4.6	0.23
Fetus HR DIP $\geq 138$	136.9	138.0	4.0	0.85
Glucose (mg/dL)	48.0	51.5	1.6	0.15
BHB (mg/dL)	8.7 <sup>a</sup>	6.0 <sup>b</sup>	0.7	0.009
NEFA ( $\mu$ Eq/L)	830.1 <sup>a</sup>	663.4 <sup>b</sup>	40.5	0.03
Insulin (units/mL)	58.4	44.7	7.3	0.20
Lactate (mmol/L)	0.71	0.66	0.04	0.45
TG (mg/dL)	24.9	24.0	2.0	0.76
AST (units/L)	65.2	65.6	3.0	0.93
LDH (units/L)	283.3	295.4	9.0	0.38
ALP (units/L)	58.3	57.1	5.0	0.86
Iron ( $\mu$ mol/L)	29.0	28.4	0.9	0.67

\*LMR – low male ratio (MR  $\leq 0.5$ ); HMR – high male ratio (MR  $> 0.5$ ).

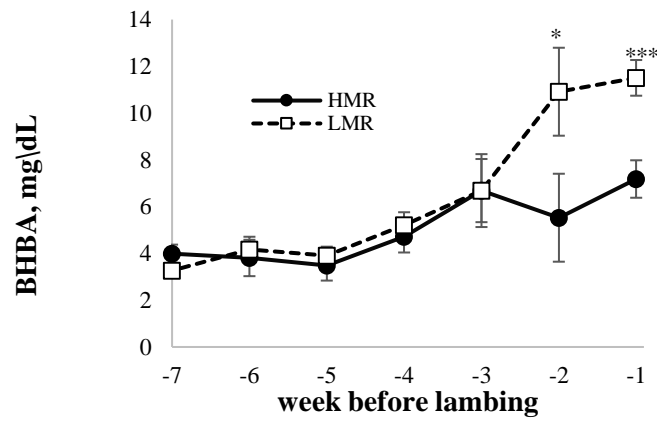
## גרף מספר 1. קצב הלב של האימהות לפי שיעור הזכרים בשגר



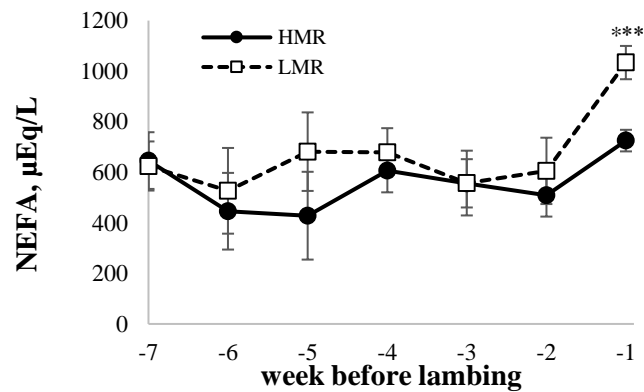
## גרף מספר 2. ריכוז הגלוקוז במהלך ההריון לפי שיעור הזכרים בשגר



גרף מספר 3. ריכוז ה-BHBA במהלך ההריון לפי שיעור הזכרים בשגר



גרף מספר 4. ריכוז ה-NEFA במהלך ההריון לפי שיעור הזכרים בשגר



## ניתוח התוצאות לפי גודל השגר

למרות המגמה של ירידה בקצב הלב ככל שמספר העוברים גדל, הבדלים אלה לא היו מובהקים, כמו גם קצב הלב של האימהות. נמצאו הבדלים מובהקים בריכוזי מטבוליטים מסוימים בדם האימהות לפי גודל השגר, כפי שנמצא בעבודות קודמות שלנו. הבדלים מובהקים בריכוזי גלוקוז, BHBA, NEFA ואינסולין. כמו כן בדקנו את ריכוז המטבוליטים של הוולדות מיד לאחר ההמלטה, ולא נמצאו הבדלים משמעותיים בריכוזי מרבית המטבוליטים, בדומה לניסוי הראשון.

## ניתוח התוצאות לפי שיעור הזכרים בשגר

- בטבלה מספר 6 מופיעות תוצאות מדידות קצב הלב של האימהות והעוברים לפי יחס הזכרים בשגר. קצב הלב של הכבשות עלה, בעוד קצב הלב של העוברים ירד לאורך סוף ההיריון. קצב הלב של כבשות הנושאות שגר בו יחס הזכרים גבוה מ-50% היה נמוך יותר בכ-5.5% בהשוואה לכבשות הנושאות שגר בעל יחס זכרים זהה או נמוך מ-50% בין יום 110 להיריון וההמלטה. קצב הלב של כבשות אלו נטה להיות נמוך יותר בכ-6.0% גם בין יום 138 להיריון וההמלטה (טבלה 6, גרף 1). ריכוזי הגלוקוז בדם הכבשות בקבוצת HMR היו גבוהים בכ-11% בהשוואה ל-LMR (גרף 2) וזאת ללא שינוי בריכוזי האינסולין. ריכוזי ה-BHBA וה-NEFA היו גבוהים בכבשות LMR בהשוואה לכבשות HMR (גרף 3 ו-4, בהתאמה). בנוסף, נצפתה מגמה לעלייה ב-7% בפעילות האנזים LDH בטיפול HMR בהשוואה ל-LMR. ריכוזי ה-NEFA בדם הוולדות היו גבוהים יותר בכ-70% ב-HMR בהשוואה ל-LMR (לא מוצג;  $P < 0.005$ ). ריכוזי הלקטט היו נמוכים בכ-43% בטיפול HMR בהשוואה ל-LMR (לא מוצג;  $P < 0.0001$ ). מלבד אלו, ריכוזי המטבוליים של הוולדות לא הושפעו מיחס הזכרים בשגר.

**סיכום** - בעבודה זאת נמצא כי יש שינוי מגמתי בקצב הלב של הכבשות והעוברים לאורך השליש האחרון של ההיריון. בנוסף, נמצא כי יש השפעה ליחס הזכרים בשגר על קצב הלב של הכבשות בתקופה זו. על אף שלא נמצאו הבדלים סטטיסטיים, נראה כי עלייה בגודל השגר בעלת מתאם שלילי עם קצב הלב של העוברים. המצב המטבולי של הכבשות הושפע לרעה כתוצאה מעלייה בגודל השגר, אך לא נראתה מגמה דומה ברורה במצבם המטבולי של הוולדות. עבודת מחקר זו הייתה ראשונית ובה נערך מעקב באולטרסאונד אחר עוברים בשליש האחרון של ההיריון. במחקר נמשך ננסה בשיטות נוספות לאפיין עוברים בסוף ההיריון, שלהם סיכוי גבוה יותר למות עד מועד ההמלטה.

**בשנה השלישית** למדנו התנסונו ופיתחנו שיטה לשאיבת נוזל מכל העוברים בתוך הרחם (בדרך כלל נוזלי אלנטואיס, ולעיתים גם נוזל אמניוטי) באופן פרטני. בכוונתנו להשלים שאיבה

ממספר מספק של כבשות על מנת לבצע אנליזה מטבולומית לרקמות אלה. חלק זה של העבודה דורש רכישת מיומנות בפרוצדורה חדשה שלא נוסתה בארץ, וידרוש משאבים גדולים על מנת להשלים את האנליזות בעזרת תקציבי מחקר ממקור אחר.

### סיכום ודיון סופי

בעבודת המחקר הראשונה במסגרת פרויקט זה הראינו כי טיפולים משולבים של פרופילן גליקול וגליצרול תרמו לשיפור משמעותי בשלושת היעדים העיקריים בטיפול בחומרים גלוקוגניים: עלייה ברמת הגלוקוז ולירידה ברמת ה- BHBA ו- NEFA. שני הטיפולים המשולבים העלו את ריכוז הגלוקוז בכ- 20%, הורידו את ריכוזי ה- BHBA בכ- 45% והורידו את ריכוזי ה- NEFA בכ- 48%, יחסית לקבוצת ביקורת. כמו כן ריכוזי האינסולין היו גבוהים יותר בקבוצת ה- MIX7:3 מאשר בקבוצת הביקורת, אבל לא היו שונים מקבוצת MIX1:1. לסיכום, התערובת של 2 הפרהקורטורים הגלוקוגניים הנפוצים, פרופילן גליקול וגליצרול תרמה להשגת שלושת היעדים באופן מוצלח וכולה לשמש כטיפול יעיל ברעלת הריון.

בניסוי השני רכשנו מכשיר אולטרסאונד דופלר, בנינו מתקן ייחודי ועקבנו אחר כבשות הנשואות הריון מרובה עוברים. בעבודה זו ביצענו סקירת באולטרסאונד ומדידת הדופק של העוברים והאימהות אחת ל- 10 ימים, החל מיום 85~ ועד ליום 138 להריון, והחל מיום 138 המדידות בוצעו כל יום עד למועד ההמלטה. תוצאות עבודה זו נותחו לפי גודל השגר ולפי אחוז הזכרים בשגר. בעבודה זאת נמצא כי יש שינוי מגמתי בקצב הלב של הכבשות והעוברים לאורך השליש האחרון של ההריון. בנוסף, נמצא כי יש השפעה ליחס הזכרים בשגר על קצב הלב של הכבשות בתקופה זו. על אף שלא נמצאו הבדלים סטטיסטיים, נראה כי עלייה בגודל השגר בעלת מתאם שלילי עם קצב הלב של העוברים. המצב המטבולי של הכבשות הושפע לרעה כתוצאה מעלייה בגודל השגר, אך לא נראתה מגמה דומה ברורה במצבם המטבולי של הוולדות. עבודת מחקר זו הייתה ראשונית ובה נערך מעקב באולטרסאונד אחר עוברים בשליש האחרון של ההריון. במחקר נמשך אנו מנסים בשיטות נוספות לאפיין עוברים בסוף ההריון, שלהם סיכוי גבוה יותר למות עד מועד ההמלטה. בשנה השלישית למדנו התנסונו ופיתחנו שיטה לשאיבת נוזל מכל העוברים בתוך הרחם באופן פרטני. בכוננתנו להשלים שאיבה ממספר מספק של כבשות על מנת לבצע אנליזה מטבולומית לרקמות אלה. חלק זה של העבודה דרש רכישת מיומנות בפרוצדורה חדשה שלא נוסתה בארץ, וידרוש משאבים גדולים על מנת להשלים את האנליזות בעזרת תקציבי מחקר ממקורות אחרים.

תוצאות עבודת זו הוצגו בכנסים בארץ ובחו"ל והתפרסמו בשני מאמרים הבאים:

1) Tamir Alon, Alexander Rosov, Lila Lifshitz and Uzi Moallem. 2023. Male fetuses negatively affect the vitality of the litter and the dam's metabolic and physiological state in multifetal pregnant ewe. PLOS ONE Volume 18 (Issue 5).



2) Tamir Alon, Alexander Rosov, Lilya Lifshitz and Uzi Moallem. 2024. The distinctive short-term response of late-pregnant prolific ewes to various doses and mixtures of propylene glycol and glycerol drenching. *Animal Feed Science and Technology* 311:115957.

שנה	אבני דרך והישגים צפויים
2020	<p>1. הרצת ניסוי עם 18 כבשות לפי שני טיפולים גלוקוגניים.</p> <p>2. ניתוח מדדים מטבוליים ופיסיולוגים לפי 2 הטיפולים הגלוקוגניים.</p> <p>3. דיגום, תיעוד ואפיון ההבדלים בין טלאים הנולדים חיים לאלו שמתו ימים ספורים לפני מועד ההמלטה.</p> <p>4. רכישת מכשיר אולטרסאונד (דופלר), קבלת הדרכה ולימוד המעקב אחר העוברים ברחם בעזרת המכשיר. כיול המכשיר.</p>
2021	<p>1. חזרה על הניסוי מהשנה הקודמת לשם הגדלת המדגם.</p> <p>2. ניתוח התוצאות וקביעת הטיפול עם נתוני היעילות מיטביים.</p> <p>3. רכישת מיומנות והתמקצעות בעבודה הטכנית במכשיר האולטרסאונד ומעקב ראשוני אחר עוברים ברחם האם.</p>
2022	<p>השלמת הניסוי משנה קודמת והתנסות ולימוד של שאיבת נוזלי רחם כבשות בסוף ההריון</p>

## 8. התאמת המחקר ליעדי הענף

מחקר זה נכנס תחת סעיף מס' 5 - שיפור בריאות ורווחת הצאן - ביעדי המחקר לענף הצאן.

## 9. החידוש המדעי והתועלת לחקלאות

מחקר זה נכנס תחת סעיף מס' 5 (שיפור בריאות ורווחת הצאן) ביעדי המחקר לענף הצאן. הבנת המטבוליזם של PG ו-GL בכבשות מאפשר בחינה מחודשת של השימוש בהם ושיפור היכולת למנוע ולטפל ברעלת היריון. שימוש בחומרים יקרים אלו באופן שאינו מבוסס גורם לבזבז כסף רב, ללא תמורה משמעותית במצב הבריאותי של הכבשות. בעקבות עבודות שנעשו במעבדתנו הושגה ההבנה כי טיפול בכל אחד מן החומרים לחוד אינו משיג את כל יעדי הטיפול, וכי ייתכן כי שילובם יכול להוות פתרון טוב יותר. במידה ואכן טיפול משולב ימצא כיעיל יותר הדבר יוכל לשפר את היכולת של הנוקדים להתמודד עם מחלת רעלת היריון. בנוסף, בחינת מועד התמותה של העוברים טרום ההמלטה תוך אפיון ההבדלים בין טלאים הנולדים חיים או מתים באותו השגר יכול להיות השלב הראשון בדרך למציאת פתרון לבעיה

נפוצה זו. פרוטוקול טיפול בכבשות המסתמך על תוצאות עבודה זו יוכל להיות מוטמע בעוד  
כמספר שנים.

## 11. רשימת ספרות

- Alon, T. 2019. The influence of glucogenic supplements on the physiology and health of late pregnant prolific ewes. The Hebrew University of Jerusalem,.
- Alon, T., A. Rosov, L. Lifshitz, H. Dvir, E. Gootwine, and U. Moallem. 2020. The distinctive short-term response of late-pregnant prolific ewes to propylene glycol or glycerol drenching. *J. Dairy Sci.* 103:10245–10257. doi:10.3168/jds.2020-18227.
- Alon, T., A. Rosov, L. Lifshitz, and U. Moallem. 2023. Male fetuses negatively affect the vitality of the litter and the dam ' s metabolic and physiological state in multifetal pregnant ewe 1–11. doi:10.1371/journal.pone.0285338.
- Alon, T., A. Rosov, L. Lifshitz, and U. Moallem. 2024. The distinctive short-term response of late-pregnant prolific ewes to various doses and mixtures of propylene glycol and glycerol drenching. *Anim. Feed Sci. Technol.* 311:115957. doi:10.1016/j.anifeedsci.2024.115957.
- Andrews, A. 1997. Pregnancy toxemia in the ewe. *farm Anim. practice* 19:306–3112. doi:10.1136/inpract.19.6.306.
- Bell, A.W. 1995. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation.. *J. Anim. Sci.* 73:2804. doi:10.2527/1995.7392804x.
- Emery, R.S., J.S. Liesman, and T.H. Herdt. 1992. Metabolism of Long Chain Fatty Acids by Ruminant Liver. *J. Nutr.* 122:832–837. doi:10.1093/jn/122.suppl\_3.832.
- Gootwine, E., T.E. Spencer, and F.W. Bazer. 2007. Litter-size-dependent intrauterine growth restriction in sheep. *Animal* 1:547–564. doi:10.1017/S1751731107691897.
- Harmeyer, J., and C. Schlumbohm. 2006. Pregnancy impairs ketone body disposal in late gestating ewes: Implications for onset of pregnancy toxemia. *Res. Vet. Sci.* 81:254–264. doi:10.1016/J.RVSC.2005.10.010.
- Jefferies, B. 1961. Body condition scoring and its use in management. *Tasmanian J. Agric.* 32:19–21.
- Marteniuk, J. V., and T.H. Herdt. 1988. Pregnancy Toxemia and Ketosis of Ewes and Does. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 4:307–315. doi:10.1016/S0749-0720(15)31050-1.
- Pugh, D.G., and A.N. Baird. 2012. *Sheep and Goat Medicine*. 2nd ed. Saunders.
- Robinson, J.J., I. McDonald, C. Fraser, and R.M.J. Crofts. 1977. *Studies on*

- reproduction in prolific ewes. *J. Agric. Sci.* 88:539.  
doi:10.1017/S0021859600037229.
- Scott, P.R., N.D. Sargison, C.D. Penny, R.S. Pirie, and J.M. Kelly. 1995. Cerebrospinal fluid and plasma glucose concentrations of ovine pregnancy toxemia cases, inappetent ewes and normal ewes during late gestation.. *Br. Vet. J.* 151:39–44.
- West, H.J. 1996. Maternal undernutrition during late pregnancy in sheep. Its relationship to maternal condition, gestation length, hepatic physiology and glucose metabolism. *Br. J. Nutr.* 75:593. doi:10.1079/BJN19960162.
- Zamir, S., A. Rozov, and E. Gootwine. 2009. Treatment of pregnancy toxemia in sheep with flunixin meglumine. *Vet. Rec.* 165:265–266.

## 12. רשימת פרסומים אחרונים של החוקרים

- U. Moallem**, A. Rozov, E. Gootwine and H. Honig (2012). Plasma concentrations of key metabolites and insulin in late-pregnant ewes carrying one to five fetuses. *J. of Animal Science.* 90:318-324.
- U. Moallem** and M. Zachut (2012). *Short communication:* The effects of supplementation of various omega-3 fatty acids to late pregnant dairy cows on plasma fatty acids composition of the newborn calves. *J. Dairy Sci.* 95:4055-4058.
- M. Zachut, H. Honig , S. Striem, Y. Zick , S. Boura-Halfon , and **U. Moallem** (2013). Periparturient dairy cows do not exhibit hepatic insulin resistance, yet adipose-specific insulin resistance occurs in cows prone to high weight loss. *J. Dairy Sci.* 96:5656–5669.
- Moallem U.** (2016). Future consequences of decreasing marginal production efficiency in the high-yielding dairy cow. *J. Dairy Sci.* 99(4):2986-95. **Editor Choice**
- U. Moallem**, A. Rosov, H. Honig, I. Ofir, L. Livshits, E. Gootwine. 2016. Molasses-based supplement improved the metabolic status of late-pregnant ewes bearing multiple fetuses. *Animal Feed Science and Technology.* 219:83–93
- Zachut M, and **U. Moallem**. 2017. Consistent magnitude of postpartum body-weight loss within cows across lactations and the relation to reproductive performance. *J. of Dairy Sci.* 100:3143-3154.
- U. Moallem**, H. Kamer, A. Hod, L. Lifshitz, G. Kra, S. Jacoby, Y. Portnick, and M. Zachut, 2019. Reducing milking frequency from thrice to twice a day at early lactation improves the metabolic status of high-yielding dairy cows with only minor effects on yields. *J. of Dairy Sci.* In Press.

M. Kalyesubula, A. Rosov, T. Alon, **U. Moallem** and H. Dvir, 2019. Intravenous infusions of glycerol versus propylene glycol for the regulation of negative energy balance in sheep: A randomized trial. *Animals*. In Press.