

מחלת הפרקינסון (PD) - מאופיינת בעיקר בפגיעות מוטוריות: קישיון (קושי בהתחלת תנועה, במעבר לעמידה), תנועות לא רצויות, רעידות ועוד. המחלה נובעת מפגיעה בשחרור הניורטרנסמיטר **דופמין**, שחשוב לויסות של פעולות מוטוריות. מכיוון שהדופמין קשור גם למערכת התגמול, יש למחלת הפרקינסון גם תסמינים שאינם מוטוריים כמו סטרס, דיכאון ופגיעה קוגניטיבית. זוהי המחלה הנירודגנרטיבית השנייה הכי נפוצה אחרי אלצהיימר - כ-10-7 מיליון חולים בעולם. בכל שנה מאובחנים במחלה כ-60,000 אמריקאים. בישראל יש כ-25,000 חולים. המחלה קיימת בכ-1-2% מהאנשים מעל גיל 65. רוב החולים הם מגיל 65 ומעלה אבל אפשר גם למצוא את המחלה אצל אנשים יותר צעירים.

מאפיינים קליניים:

- **פגיעות מוטוריות** - רעד, קשיחות שרירים
- **פגיעה ברפלקסים** המביא לקשיים **וחוסר באיזון**
- **תפקוד לקוי של מערכת העצבים האוטונומית** - הפרעה בתנועות מערכת העיכול, הפרעה בתפקוד של שלפוחית השתן.
- **Non motor symptoms** - השפעות שאינן מוטוריות: דיכאון, פגיעה קוגניטיבית (שהיא יחסית נדירה, מופיעה בשלבים יותר מורכבים של המחלה).

גנטיקה ופרקינסון -

המחלה לרוב לא קשורה לסמנים גנטיים - כ-5% מהחולים במחלה הם בעלי מרכיב גנטי (באוכלוסיות מסוימות יכול להגיע ל-15-10%). דוגמאות לגנים שפגיעה בהם קשורה למחלה: LRRK2, PARK7, PINK1, PRKN, SNCA. חלק מהמוטציות הן loss of function, חלק מהמוטציות משפיעות על פקטורים פתולוגיים שמצטברים במוחות של החולים במחלה. מוטציות אלה יכולות לגרום להתפרצות המחלה בגיל צעיר יחסית.

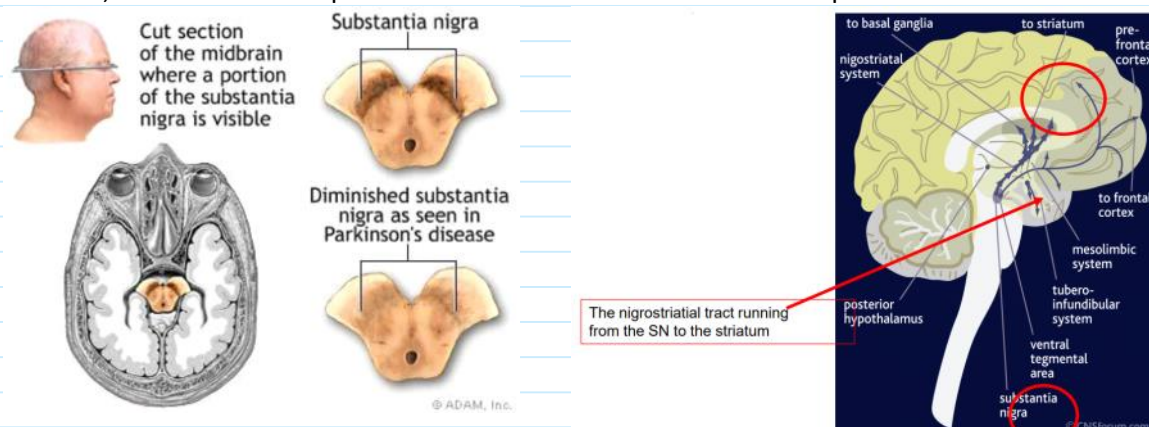
מפורסמים עם פרקינסון -

- מוחמד עלי המתאגרף. חבלות מוחיות (למשל כתוצאה מספורט) יכולות להעלות את הסיכוי לחלות בפרקינסון.
- השחקן מייקל ג'יי פוקס
- יש הטוענים שסלבדור דאלי היה חולה פרקינסון וזה השפיע על התפיסה שלו והתבטא בציורים. יש הבדל גדול בין מה שצייר בתחילת הקריירה למה שצייר בסופה. באופן כללי מחלת הפרקינסון יכולה להוביל לשינויים בתפיסה המרחבית וביצירתיות.

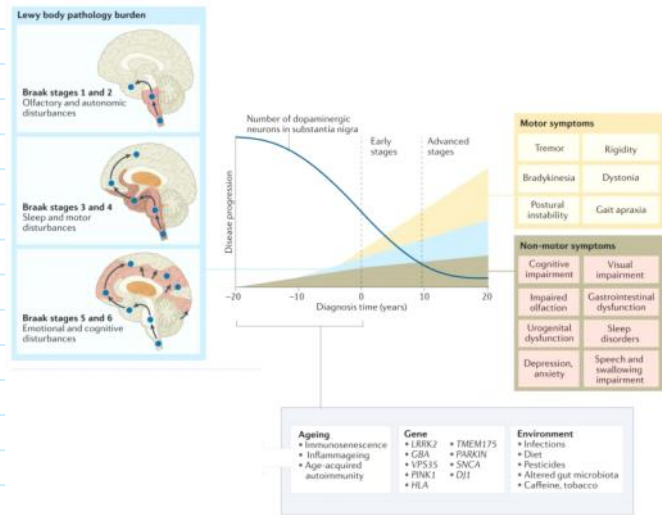
דופמין ופרקינסון - במחלת הפרקינסון יש פגיעה בייצור של דופמין וביכולת השמירה שלו בסיקולות. יש מוטציות שמשפיעות על יכולת האגירה של דופמין ובעקבות כך אין מספיק דופמין שיכול להשתחרר למרווח הסינפסה.

הפגיעה ראשונית הקשורה למחלה מתרחשת במרכזים של תאי עצב החשובים לייצור דופמין. מרכזים אלה נמצאים ב- **Substantia nigra** (SN) - מבנה ב-midbrain שמשחק תפקיד חשוב בהתמכרות ותנועה. האזור בתוך ה-SN שקשור לפרקינסון הוא ה- **pars compacta** (SNpc). תפקידו הבולט ביותר של אזור זה הוא שליטה בתפקודים מוטוריים.

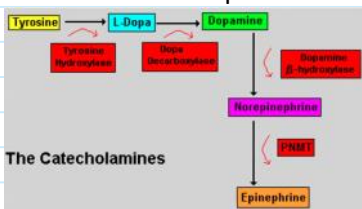
בתאים המייצרים דופמין, שנמצאים ב-pars compacta, יש פיגמנט שנקרא **ניורומלנין** ולכן תאים אלה נראים בצבע שחור. במחלת הפרקינסון התאים האלה נכנסים לסטרס, אין ייצור של דופמין ולכן יש ירידה בצבע השחור. ירידה של 80% מהווה סימן למחלה. אפשר בעזרת שיטות הדמיה (PET) לזהות שינויים ברמת הניורומלנין באזור הזה 5 שנים לפני שהמחלה פורצת. אבל הבעיה היא שאי אפשר עכשיו לעשות את הבדיקות האלה לכל האוכלוסייה... מחפשים דיאגנוסטיקה יותר מהירה למחלה, אולי בעזרת חומרים שיש בדם.



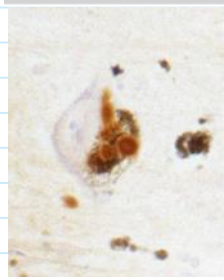
המחלה מתקדמת בצורה מאוד חזקה, וככל שהמחלה מתקדמת יש תמותה של תאים ב-substantia nigra וירידה בייצור דופמין.



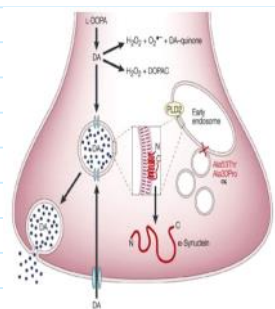
ייצור דופמין - הדופמין נוצר מהחומצה האמינית **טירוזין**. טירוזין לא מיוצר במוח, הוא חייב להיספג מהפריפריה. הוא מיוצר בכבד מהחומצה האמינית **פנילאלנין**. בכבד יש את האנזים phenylalanine hydroxylase שהופך פנילאלנין לטירוזין. הטירוזין שנוצר בכבד יכול לדודד למוח ולשמש כחומר מוצא להיווצרות דופמין. אם יש פגיעה בכבד (למשל בגלל אלכוהוליזם), לא נוצר טירוזין בכמות מתאימה ובתוצאה מכך יכולות להופיע תופעות דומות לפרקינסון.



במוח, הטירוזין הופך ל-**L-Dopa** ע"י האנזים **tyrosine hydroxylase**. **L-Dopa** הופך ל**דופמין** ע"י האנזים **Dopa decarboxylase**. **tyrosine hydroxylase** הוא מרקר לתאים המייצרים דופמין. בפרקינסון יש פגיעה באנזים זה ובעקבות כך לא נוצר L-DOPA שממנו נוצר הדופמין.



Lewy bodies - אגרגטים של חלבונים המאפשרים לזהות את מחלת הפרקינסון. התגלו ע"י פרינץ היינריך לוי. במחלת הפרקינסון, בתאים דופמינרגיים ב-substantia nigra מתחילים לשקוע משקעים שנובעים מפעילות לא תקינה של החלבון **אלפא סינוקלאין**. חלבון זה עובר היפר-פוספורילציה ועקב כך שוקע במרבצים (אגרגטים) בתאים. מרבצים אלה נקראים **lewy bodies**. זה יכול לגרום לסטרס לתאים ואי תפקוד תקין בשחרור הדופאמין. בתמונה רואים את אזור substantia nigra בחולה פרקינסון בו עשו צביעה של החלבון אלפא סינוקלאין, וניתן לראות את ה-lewy bodies.



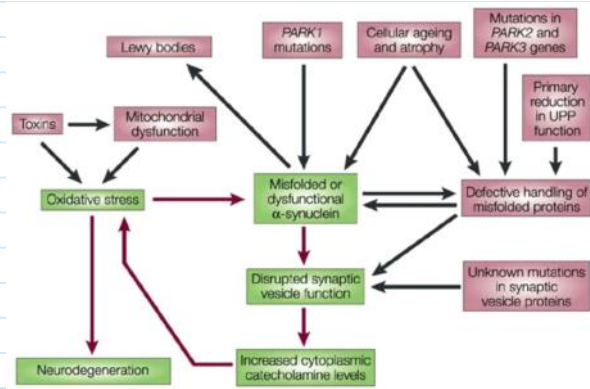
אלפא סינוקלאין - חלבון בעל תפקיד בתמיכה בסיקולות שאוגרות דופמין. כאשר הוא עובר היפר פוספורילציה, התא כבר לא יכול לאגור דופמין בצורה תקינה. בריכוזים גבוהים הדופמין יכול לעבור פירוק, שבעקבותיו משתחררים רדיקלים חופשיים שיכולים לפגוע בפעילות תא העצב. יש מספר מוטציות הקשורות לאלפא סינוקלאין שמעודדות אגרגציה שלו, ויכולות לגרום להתפרצות של מחלת הפרקינסון בגיל צעיר יותר. כשמבטאים את המוטציות האלה ביתר בעכברים, זה יכול לגרום לתופעות דומות למה שרואים בפרקינסון.

הראו כי יכול להיות מעבר של ה-lewy bodies בין תא אחד לתא אחר. התא יכול לשלוח מיצלות המכילות מרכיבים של ה-lewy bodies לתאים אחרים וכך בעצם "להדביק" תאים אחרים. מחלת הפרקינסון אינה מחלה מדבקת, אבל ברגע שנוצר במוח מוקד פגיעה הוא כן יכול להשפיע על אזורים אחרים במוח.

בעקבות מחקר זה עלתה השאלה האם מחלת הפרקינסון קשורה ל-**prion diseases** - מחלות כמו "הפרה המשוגעת" בהן אוכלים חלבון פגום שיכול להגיע למוח ולגרום לשינויים בחלבון ה-prion התקין, מה שגורם לסטרס למוח. אבל יש **הבדל מהותי**: אין שום עדות לכך שאפשר לקבל את מחלת הפרקינסון מהסביבה (למשל - אי אפשר לקבל פרקינסון בעקבות אכילת חלבון אלפא סינוקלאין פגום). הדריקו אלפא סינוקלאין פגוע לעכברים ישירות למוח וראו שזה גרם לפגיעה באותו אזור. אבל אי אפשר לקבל את המחלה מהפריפריה. יש מערכת חשובה שמונעת את הפיזור של האלפא סינוקלאין במוח, בין היתר אחראיים לכך תאי הגליה.

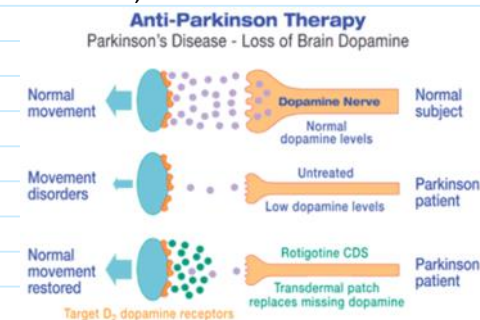
מנגנונים הקשורים להתפתחות המחלה:

- פגיעה או קיפול לא נכון של אלפא סינוקלאין, שיכול לגרום להיווצרות lewy bodies
 - פגיעות מיטוכונדריות שיכולות להשפיע על האלפא סינוקלאין ולגרום לתמותה של תאים
 - מוטציות הפוגעות בפעילות מיטוכונדריות ובתאים השונים שיכולים להשפיע על הופעת המחלה.
- אנחנו לא יודעים מה הסיבה למחלה, אנחנו יודעים מהם גורמי הסיכון.



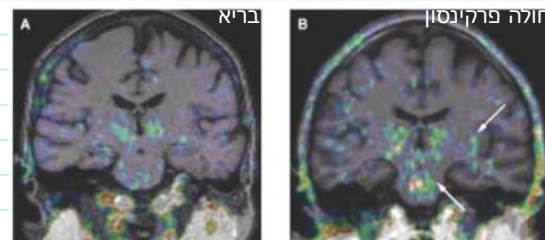
טיפולים מקובלים לפרקינסון:

- **אגוניסט לרצפטור של דופמין** - חומר שיכול להיקשר לרצפטור לדופמין ולגרום להפעלה של המערכת.
 - **L-Dopa** - חוסך של בייצור הדופמין (מאפשר לדלג על השלב של הפיכת טירוזין ל-L-Dopa), מה שעוזר לתא שנמצא בסטרס לייצר דופמין יותר בקלות.
 - **Deep-brain stimulation** - סטימולציה של המוח ע"י אלקטרודות.
- הטיפולים לא מרפאים את המחלה, לא מונעים תמותה של תאים (כי אנחנו לא יודעים מה גורם לכך) אלא מטפלים בסימפטומים.

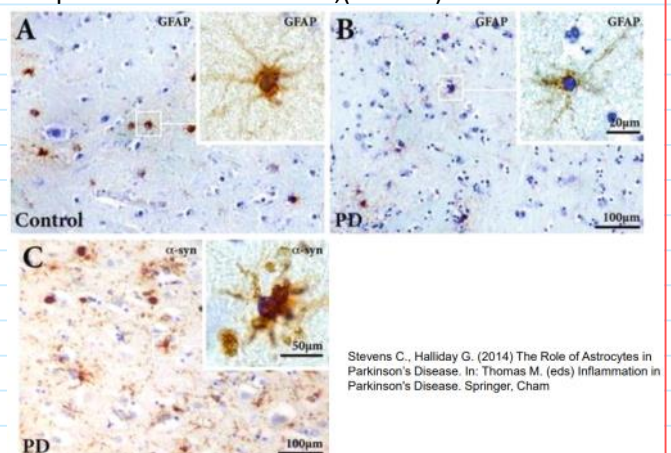


דלקת ופרקינסון - במחלת הפרקינסון יש הפעלה של **מיקרוגליה**. איך בודקים את זה? בעזרת PET ע"י שימוש בסמן שנקשר לרצפטור המתבטא על תאי מיקרוגליה ומונוציטים. הפעלת תאי המיקרוגליה מרוכזת באזור ה-striatum וה-substantia nigra ולא מפוזרת בכל המוח.

הסמן הוא לא ספציפי אבל המיקום של התאים הדלקתיים שעברו אקטיבציה יכול להראות ספציפיות לאזור מסוים שבו התהליכים הדלקתיים קורים.

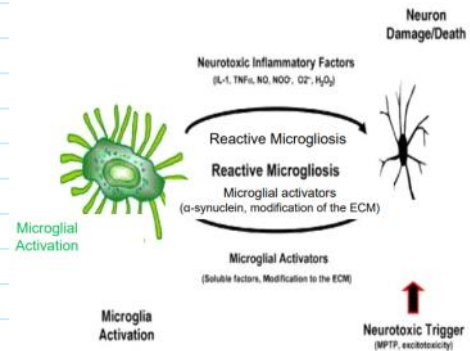


בנוסף, יש גם אקטיבציה של **אסטרוציטים**. האסטרוציטים נמצאים סביב הניורונים שנמצאים בסטרס. מטרתם ליצור חיץ בין האזור הפגוע לאזור הבריא, וליצור סביבה המאפשרת ריפוי. בתמונה ניתן לראות שבחולה פרקינסון (PD) לאסטרוציטים יש יותר שלוחות בהשוואה לאדם בריא (control), מה שמראה שהם עברו אקטיבציה.



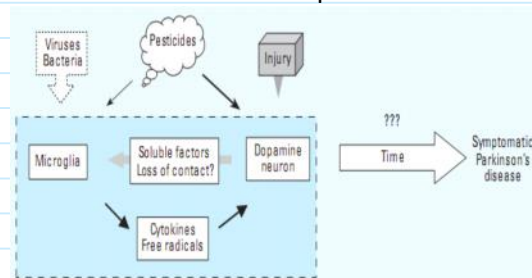
תאי הגליה עוברים אינטראקציה עם הניורונים ויש מערכת של משוב, דו שיח ביניהם. תא העצב שולח סיגנלים של סטרס לתאי

מיקרוגליה ואסטרופיטים. תאי הגליה מגיבים לסטרס ומשחררים פקטורים דלקתיים, בדומה למה שקורה כשיש חדירת פתוגן זר. לכן בשלבים הראשונים האקטיבציה של תאי הגליה יכולה דווקא לגרום לנזק. מצד שני, תאי הגליה מועילים בכך שהם יכולים למנוע התפזרות של אלפא סינקולאין מתא אחד לתא אחר ע"י בליעה שלו.



סטרוסורים שיכולים לגרום למחלה:

- טוקסינים
- חבלות מוחיות
- יש עדויות לכך שיש וירוסים שנמצאים במוח שיכולים בין היתר לגרום למצבים של סטרס ואקטיבציה של המיקרוגליה, ואולי הם יכולים להיות קשורים להתפתחות המחלה.



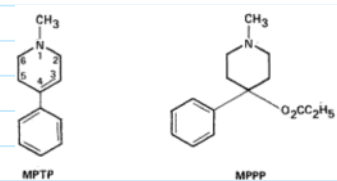
מיקרוגליה בPD:

- בנתיחות לאחר המוות של מוחות של חולי פרקינסון, מוצאים רמות גבוהות של ציטוקינים פרו דלקתיים כמו $IFN\gamma$, $TNF\alpha$, $IL-6$ ונזקים הקשורים ל-oxidative stress.
- במודלים עכבריים של פרקינסון יש עלייה בייצור iNOS שמייצר רדיקלים חופשיים שגורמים לסטרס.
- תאי מיקרוגליה שעברו אקטיבציה מייצרים רדיקלים חופשיים שיכולים לגרום לחמצון של דופמין, מה שכנראה גורם נזק למיטוכונדריה במוח.
- במודלים העכבריים של פרקינסון, בהם יש אלפא סינקולאין טרנסגני, ניתן למצוא תאי מיקרוגליה מאוקטבים באזורים הקשורים להיווצרות דופמין (בדומה למה שרואה אצל אנשים החולים בפרקינסון). האקטיבציה של מיקרוגליה מגיעה לרוב לפני המוות הנירונלי.

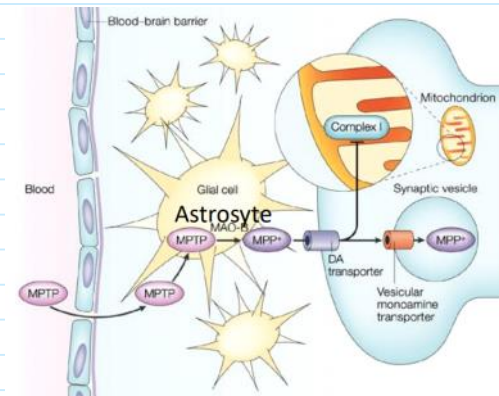
- α -synuclein המופרש מנירונים עובר פאגוציטוזה ע"י תאי מיקרוגליה, מה שיכול לגרום לאקטיבציה שלהם. האקטיבציה של מיקרוגליה כרוכה ביצירת superoxide חוץ תאי, עלייה ב-ROS בתוך התא ושינויים מורפולוגיים בתאי הגליה.
- מתן אגרגטים של α -synuclein גורם לאקטיבציה של תאי מיקרוגליה, שנהיים טוקסיים כלפי ניורונים דופמינרגים.
- תאי הגליה משחררים רדיקלים חופשיים וציטוקינים שיכולים לגרום לסטרס ותמותה של תאים דופמינרגים. יש תהליך משו - הסטרס שמגיע מהתאים הדופמינרגים יכול להפעיל את מסלול האקטיבציה של מיקרוגליה ולהגביר עוד יותר את הסטרס ותמותת התאים.

התפקיד של טוקסינים במחלת הפרקינסון

סטודנט רצה ליצור מבנה של **MPPP** שהוא אופיואיד - חומר המשמש להקטנת כאבים, יכול לשמש כסם להרגשה טובה. הוא ניסה לסנתז את זה אבל בטעות יצא לו חומר אחר שנקרא **MPTP**. הוא הזריק את זה לעצמו ואחרי כמה חודשים פיתח תופעות דומות של מחלת הפרקינסון. אחרי שהפסיק את ההזרקה הוא חזר לעצמו. בעקבות כך התחילו לחקור האם יש טוקסינים שיכולים לגרום להתפתחות תסמינים של פרקינסון. מצאו כל מיני רעלנים שנמצאים בחומרי הדברה שיכולים אולי להיות גורם סיכון למחלה (לא ידוע אם זה באמת נכון). בחלק מהרעלנים האלה משתמשים כדי לחקור את התפתחות המחלה.



ניסו להבין למה ה-MPTP גרם להתפתחות תסמיני פרקינסון. ראו כי ה-MPTP עובר את מחסום הדם מוח. הוא מגיע לתאי הגליה (בעיקר אסטרופיטים) ושם עובר תהליך שינוי בו הוא הופך ל- MPP^+ . MPP^+ יכול לחדור דרך ה-dopamine transporter שקיים על תאי העצב המייצרים דופמין. כך הוא נכנס לתא, ולאחר מכן הוא יכול לחדור למיטוכונדריה ולפגוע בפעילותה, וכך לגרום לסטרס בתא. במשך הרבה שנים השתמשו בחומר הזה כדי ליצור מודלים עכבריים לפרקינסון (היום כבר פחות משתמשים בזה כי זה מסוכן גם למי שמזריק).

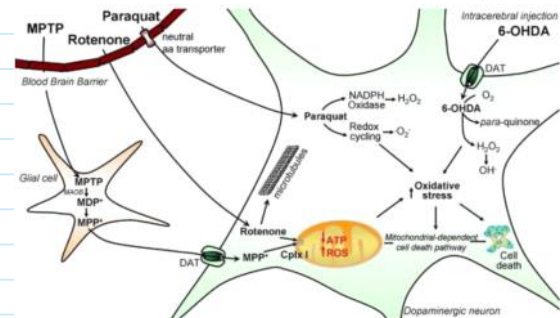


טוקסינים נוספים שייתכן ויכולים לגרום לתסמינים של פרקינסון:

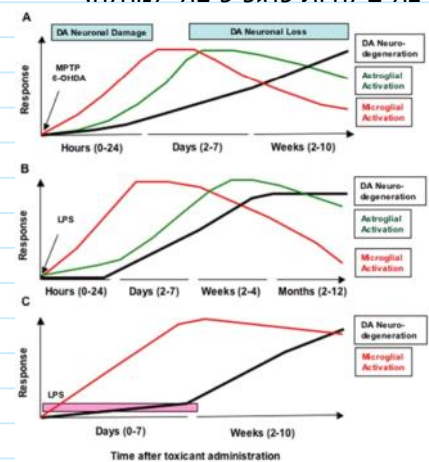
- **Paraquat** - נמצא בחומרי הדברה
- **Rotenone** - משתמשים בו במעבדות, גורם למיטוכונדריה להיות במצב של סטרס ולייצר הרבה רדיקלים חופשיים, מה שיכול לגרום לתמותה של תאים.

ועוד...

לסיכום, יש רעלנים שונים שיכולים לגרום לתמותה של תאים דופמינרגיים ולשמש ליצירת מודל למחלת הפרקינסון.



הקשר בין LPS לפרקינסון - כאשר הזריקו LPS לאזור ה-striatum במוח של עכברים, זה גרם לתהליך דלקתי - אקטיביה של מיקרוגליה ולאחר מכן גם של אסטרוציטים, מה שיכול להוביל בסופו של דבר למוות של נוירונים. זה חיזק את המחשבה שדלקת משחקת תפקיד במחלה, ושאקטיביה של מיקרוגליה יכולה לשחק תפקיד מזיק - לגרום לסטרס ותמותה של תאי עצב. לפיכך, ייתכן שתאי המיקרוגליה יכולים להיות טרגט טיפולי למחלה.



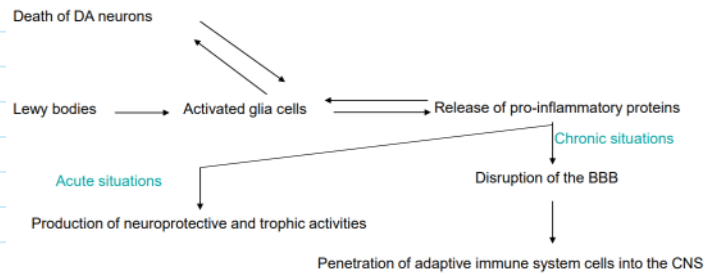
חדירת תאים דלקתיים מהפריפריה - בדקו נוכחות של מרקרים לתהליכים דלקתיים בסרום וב-CSF בחולי פרקינסון לעומת אנשים בריאים. התוצאות מראות כי בחולי פרקינסון יש אקטיביה של פקטורים דלקתיים.

בסרום של חולי פרקינסון יש עלייה בציטוקינים הפרו-דלקתיים IL-6, TNF α ובפקטורים דלקתיים נוספים לעומת אנשים בריאים. לא ברור מה המקור של אותם פקטורים דלקתיים שנמצאים בפריפריה (בסרום הדם). היום ההנחה היא שהמקור שלהם הוא בפריפריה ולא בפקטורים שיצאו מהמוח כתוצאה מפריצה של ה-BBB.

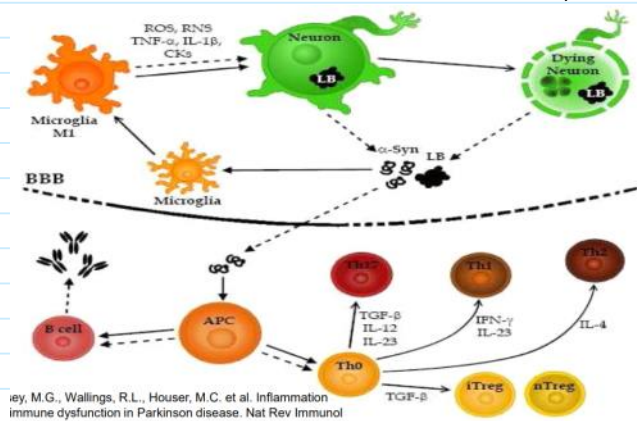
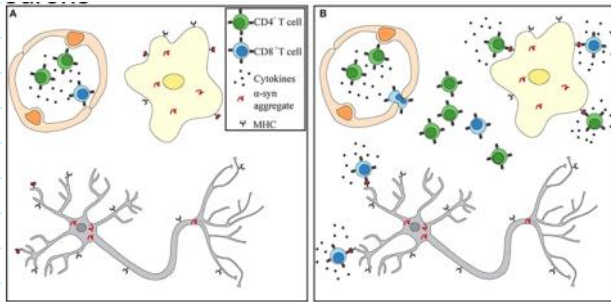
ב-CSF של חולי פרקינסון רואים אקטיביה וחדירה מסוימת של תאי T. לא מדובר בעלייה גדולה כמו שיש בטרשת נפוצה (זו לא מחלה אוטואימונית) אבל כן יש עלייה מסוימת. בנוסף, יש עלייה ב-TNF α ו-IL-6 ו-IL-1 β . הפקטורים האלה מצביעים על כך שיש תהליכים דלקתיים גלובליים.

הראו שיש גם שינויים גנטיים / פולימורפיזם הקשורים לתהליכים דלקתיים שיכולים להשפיע על המחלה.

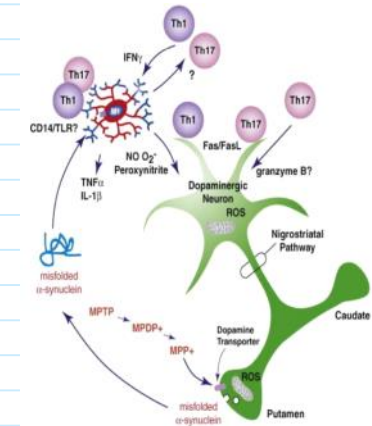
איך דלקת תורמת להתקדמות המחלה? תהליכים דלקתיים באופן כללי יכולים לגרום לסטרס ולהשפיע על התאים הדופמינרגיים שיכולים להשפיע על תאי גליה. יש ייצור של Lewy bodies שעוברים מתא אחד לתא אחר. תהליכים אלה מובילים לנזק כרוני שמתקדם כל הזמן.



במחלת הפרקינסון אפשר לראות עלייה ברמת האקטיבציה של תאי T בפריפריה, ביניהם Th1 ו-Th17 (לא באותה רמה כמו בטרשת נפוצה). ניתן לעשות אקטיבציה של תאים בתרבות נגד אלפא סינקלאין, ואז אפשר לראות עלייה בספציפיות של תאי T וגם עלייה בנוגדנים נגד אלפא סינקלאין. התאים החיסוניים שעוברים אקטיבציה יכולים לחזור למוח. החידרה שלהם למוח, גם אם במספרים נמוכים, יכולה לגרום לסטרס ופגיעה.



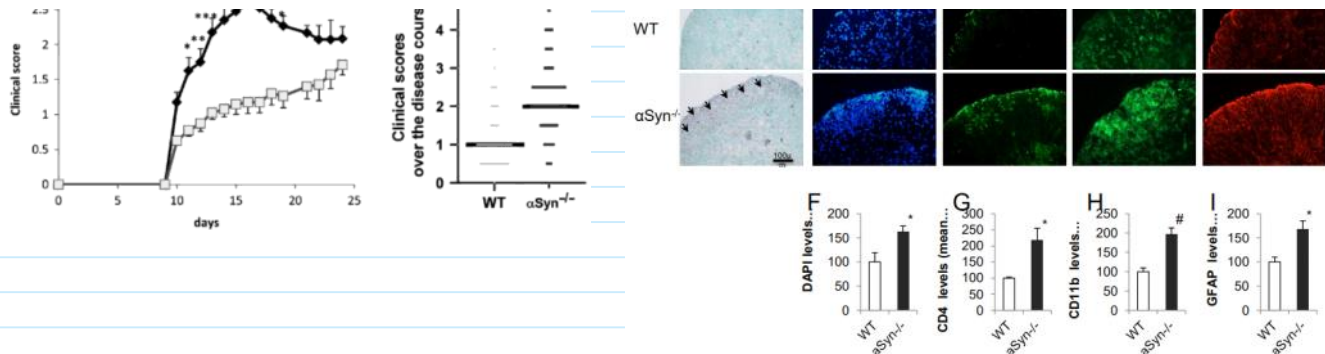
במודלים עכבריים שעברו הזרקה כנגד טוקסין (MPTP) שמשפיע על המוח, יש עלייה בתאים פרו דלקתיים כמו Th1 ו-Th17 גם בפריפריה. האקטיבציה הזו יכולה לגרום לשחרור ציטוקינים שמגבירים את פעילות המיקרוגליה והמונוציטים. יש שחרור של IL-6 ו-TNFα ועלייה ברדיקלים חופשיים, מה שמוביל לסטרס (עקה) ותמותה של התאים.



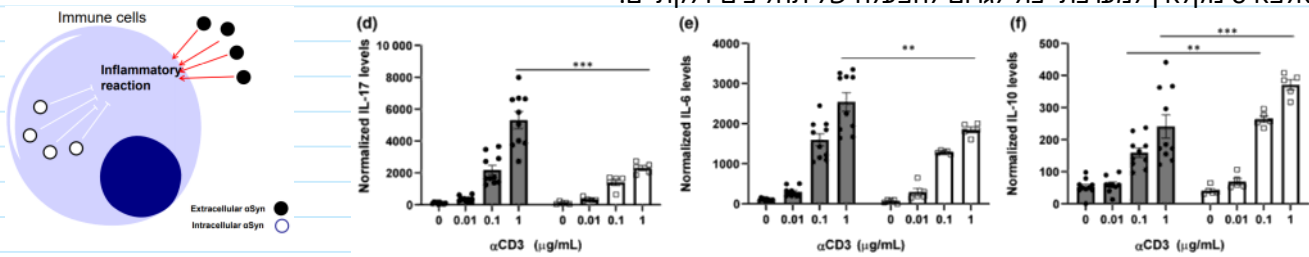
האם המוטציה באלפא סינקלאין משפיעה גם על התהליכים הדלקתיים בתאי T?

במחקרים על עכברים משתמשים בעכברים שהם זהים גנטית אחד לשני שנמכרים ע"י חברה מסוימת. למרות שהעכברים זהים גנטית, אוכלים אותו דבר וכו', כאשר נעשה להם מניפולציות גנטיות הקשורות למחלת האלצהיימר/פרקינסון לא תמיד הם יפתחו פתולוגיה זהה. הכלאות שעושים בין עכברים דומים גנטית יכולות לגרום למוטציות. כתוצאה מכך בשנת 2000 נוצר עכבר שאיבד לגמרי את ביטוי האלפא סינקלאין - $\alpha\text{Syn}^{-/-}$. הוא חי לגמרי ולא הראה שום תופעות פתולוגיות. **איך גילו את זה?** החל משנת 2000, במחקרים שנעשו על מחלת הפרקינסון במודלים עכבריים ראו תוצאות שונות בין עבודות שנעשו באירופה לעבודות שנעשו בארה"ב, למרות שהעכברים בהם השתמשו באירופה ובארה"ב היו זהים גנטית (כמעט, חוץ מהאלפא סינקלאין). בארה"ב ראו היווצרות משקעים של אלפא סינקלאין, ואילו באירופה ראו אפקטים של סטרס אבל לא משקעים של אלפא סינקלאין. בסוף הבינו שבעכברים באירופה אין משקעים כי הם לא מבטאים אלפא סינקלאין בכלל. כלומר, עכברים עם אותו רקע גנטי נמכרו גם באירופה וגם בארה"ב, בכל אחד מהמקומות עשו להם הכלאות אחד עם השני, ומתישהו בהכלאות שנעשו באירופה נוצר בטעות עכבר חסר אלפא סינקלאין לגמרי. כשלקחו עכברים חסרי אלפא סינקלאין ועשו להם EAE, הם היו חולים הרבה יותר מעכברים נורמליים. הייתה אצלם אינפילטרציה מוגברת של תאי T למוח ואקטיבציה מוגברת של מיקרוגליה, מונוציטים ואסטרוציטים. העכברים האלה לא פיתחו בעיות מוטוריות שמזכירות פרקינסון, אבל כשאקטבו אותם במודל אינפלמטורי (EAE) התפתחה מחלה הרבה יותר גדולה. כאשר בדקו את הציטוקינים המשוחררים מכל אחד מהתאים:





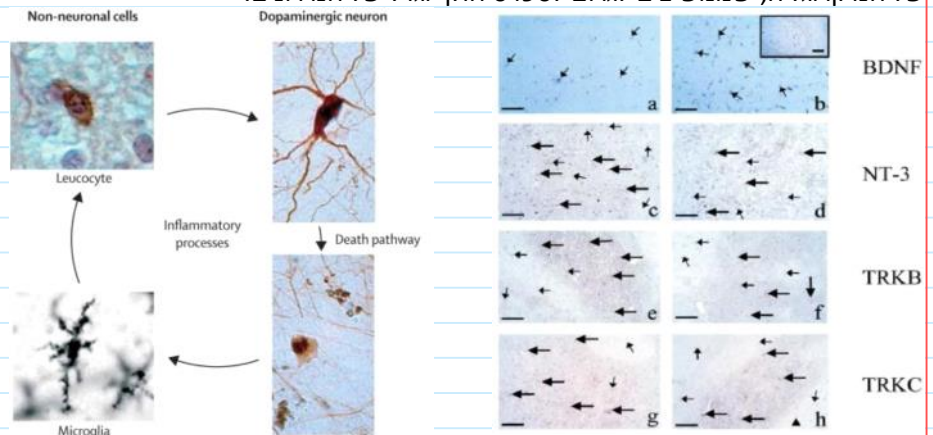
בדקו את הציטוקינים המתבטאים בתאים של עכברים חסרי אלפא סינקלאין ($\alpha\text{Syn}^{-/-}$). בגרפים רואים את רמות הביטוי של IL-17, IL-6, ו-IL-10 (באפור). כאשר לוקחים את התאים מעכברי ה- $\alpha\text{Syn}^{-/-}$ ועושים בהם overexpression של אלפא סינקלאין, רואים ירידה במרקרים פרו דלקתיים כמו IL-17 ו-IL-6, ועלייה במרקרים אנטי דלקתיים כמו IL-10 (בלבן).
מסקנה: לאלפא סינקלאין עצמו יש חשיבות בפעילות של תאי T. אולי הפוספורילציה של אלפא סינקלאין ואובדן התפקוד התקין שלו (לא רק היווצרות המשקעים) יכולים להשפיע על התפתחות המחלה, לא רק ברמת הניורונים אלא גם ברמת תאי ה-T. ייתכן ואלפא סינקלאין יש תפקיד דואלי: הוא גם עובר מתא לתא וגורם לאקטוב חוץ תאי, וגם יש לו תפקוד בתוך התא הדלקתי עצמו. מצד אחד, חוסר פעילות של אלפא סינקלאין (בגלל היפר פוספורילציה) גורם לתהליכים דלקתיים מוגברים יותר. מצד שני, השחרור של אלפא סינקלאין למערכת יכול לגרום להפעלה של תהליכים דלקתיים.



האם בפרקינסון יש תהליכי תיקון?

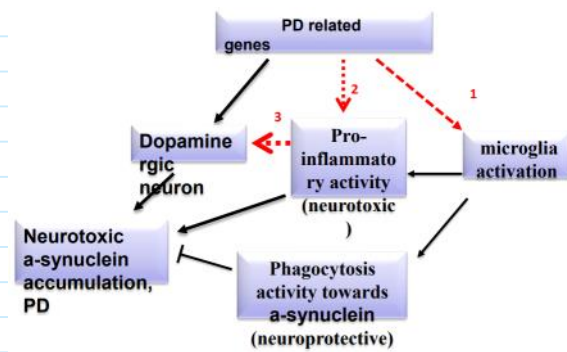
אם מסתכלים על תאי גליה דלקתיים שנמצאים סביב התאים הדופמינרגים, רואים עלייה ב-growth factors החשובים לפעילות התקינה של הניורונים, כמו BDNF, NT-3, ועוד. פקטורים אלה משפיעים על קבלה של נוטריינטים ופעילות מיטוכונדריאלית, תומכים בפעילות הניורונים ועוזרים בהורדת סטרס נוירונלי. העלייה בביטוי ה-growth factors מעיד על כך שיש פוטנציאל לתיקון. אבל בפועל אין תיקון - יש כל הזמן דלקת.

למה? אולי יש תהליך שמשנה את פעילות המיקרוגליה, וגורם לסייקל שבסופו של דבר גורם לסטרס לנוירונים שגורם לאקטיבציה מוגברת של המיקרוגליה, שממשיכים לגרום לסטרס הולך וגדל של הניורונים.

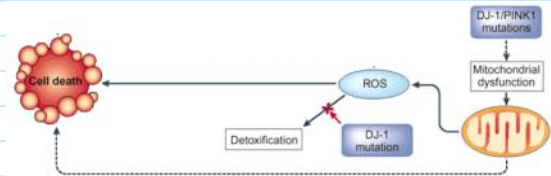


איך הגנים הקשורים לפרקינסון יכולים להשפיע על פעילות המיקרוגליה?

אנחנו יודעים שלתאי המיקרוגליה יש אפקטים מועילים (סילוק ומניעת הפיזור של אלפא סינקלאין) ואפקטים מזיקים (הפרשת ציטוקינים פרו דלקתיים, עלייה בשחרור רדיקלים חופשיים). אולי הגנים הקשורים לפרקינסון יכולים להשפיע על המסלול המזיק של המיקרוגליה וכך לגרום למחלה. כלומר, אולי זה לא שהגנים האלה פגעו בפעילות הניורונים והניורונים גרמו לאקטיבציה של המיקרוגליה, אלא שהגנים עצמם שיבשו את הפעילות התקינה של תאי הגליה וגרמו להם להיות יותר דלקתיים. זו השערה שהעלו אצל דן במעבדה.

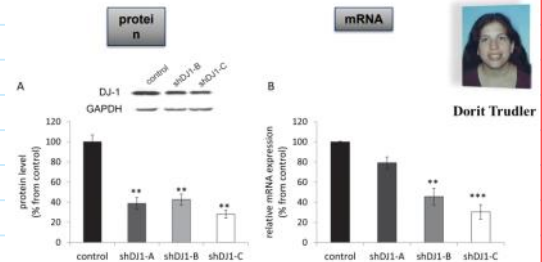


DJ-1 - גן חשוב לפעילות מיטוכונדריאלית ויש לו גם פעילות הקשורה לקיפול חלבונים. יכול לשמש כ-oxidative stress sensor. מוטציות של loss of function (חוסר ביטוי) ב-DJ-1 מהוות גורם סיכון למחלה, ואחראיות ל-1-2% מהמקרים של התפרצות מוקדמת (בגיל צעיר) של מחלת הפרקינסון. המוטציות כנראה גורמות לשיבוש בפעילות המיטוכונדריה בנוירונים.



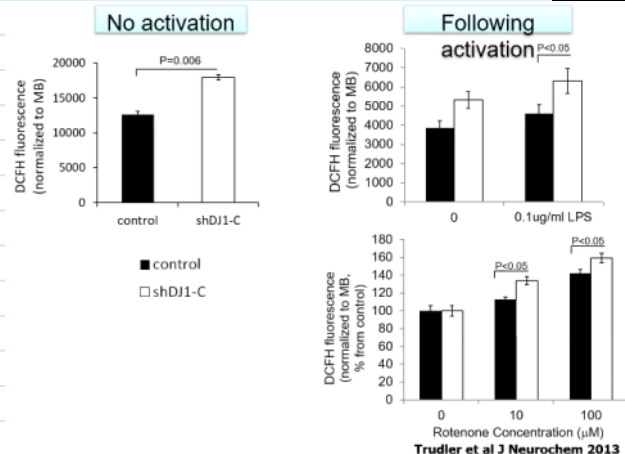
ניסוי הבודק את השפעת המוטציה ב-DJ-1 על תאי מיקרוגליה:

גרמו לחוסר של DJ-1 בתאי המיקרוגליה ע"י shRNA (הורדת הביטוי ברמת RNA והחלבון).

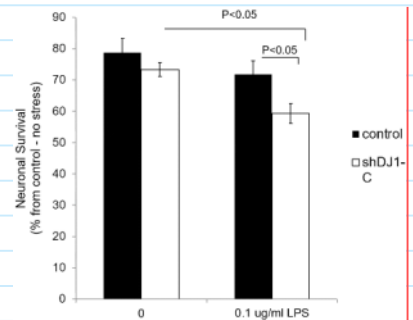


הראו כי הירידה בביטוי DJ-1 גרמה לעלייה בייצור של רדיקלים חופשיים, כלומר התאים נהיו יותר ריאקטיביים. תאים אלה הראו עלייה בתגובתיות ל-LPS ו-Rotenone, כלומר כשמאקטבים אותם בעזרת LPS או Rotenone הם משחררים יותר רדיקלים חופשיים מאשר תאי מיקרוגליה רגילים.

מסקנה: הגן DJ-1, אותו אנשים קישרו לפעילות מיטוכונדריאלית בנוירונים, יכול להשפיע גם על תאי מיקרוגליה.

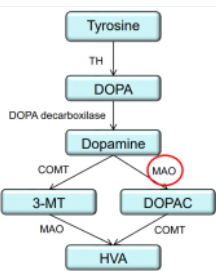
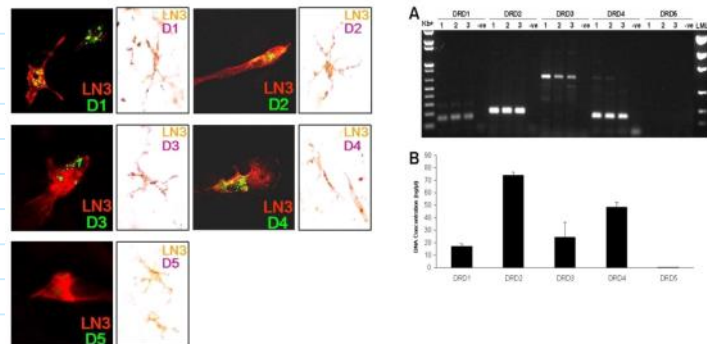


לאחר מכן לקחו את ה-supernatant (הנוזל שמופרש מהתאים) גם מהתאים עם ה-shRNA וגם מתאי מיקרוגליה רגילים, שמו אותו על תאים נוירוליים ובדקו את אפקט הסטרס. ראו כי ההזגרה עם הנוזל מתאי המיקרוגליה חסרי ה-DJ-1 גרמה לנזק ותמותה מוגברת של תאים נוירוליים. כנראה זה השפיע על ייצור רדיקלים חופשיים.



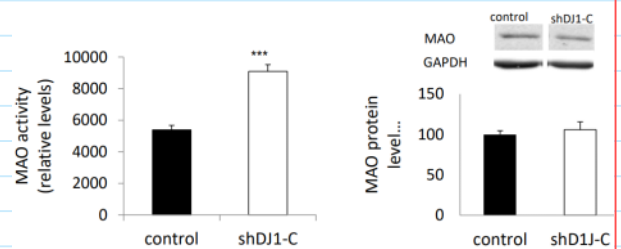
תגובתיות תאי המיקרוגליה לדופמין - רצפטורים לנוירטרנסמיטרים קיימים לא רק על גבי נוירונים אלא גם על תאי מיקרוגליה ואסטרוציטים, מה שמאפשר אינטראקציה בין תאי הגליה לנוירונים ושמידה על פעילות סינפטית תקינה. בתמונות רואים כי על תאי מיקרוגליה יש רצפטורים לדופמין.

Human microglia express dopamine receptors

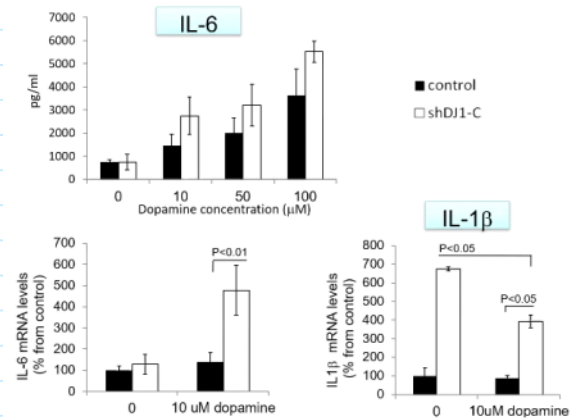


Dopamine toxicity - דופמין יכול לעבור פירוק עי אנזימים שונים כמו MAO ו-COMT. **monoamine oxidase (MAO)** נמצא גם בתאי גליה וגם בנוירונים. הוא יכול לפרק דופמין למרכיבים שחלקם הם אוקסידטיביים. פירוק מוגבר של דופמין יכול לגרום לעלייה בoxidative stress. במחלת הפרקינסון יש פוספורילציה של אלפא סינוקלאין אשר פוגעת ביכולת של התא לשמור את הדופמין בסיקולות -> הדופמין מפוזר בתא -> פירוק מוגבר של דופמין -> oxidative stress -> תמותה של תאים דופמינרגיים.

הקשר בין מוטציה ב-DJ-1 לפירוק דופמין - בהמשך לניסוי שראינו קודם: במודלים העכבריים של מיקרוגליה עם knockdown ל-DJ-1 הייתה עלייה ברמת הפעילות של MAO.

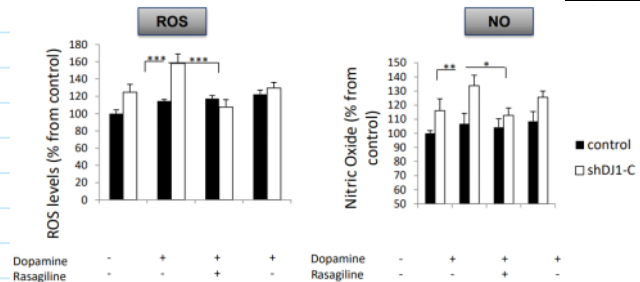


כאשר הוסיפו דופמין בריכוזים שונים למדיום של התאים בתרבית, ראו כי תאי המיקרוגליה עם ה-Knockdown ל-DJ-1 הרבה יותר רגישים לדופמין - יש יותר שחרור רדיקלים חופשיים בתגובה לעלייה בריכוז הדופמין. בנוסף, בתאים אלה יש עלייה בהפרשת ציטוקינים כמו IL-6 ו-IL-1β בתגובה לדופמין. **מסקנה:** חשיפה לדופמין גורמת לתגובה דלקתית, אשר מוגברת כאשר יש מחסור ב-DJ-1. ייתכן שזה מעיד על רגישות של התאים לנוירטרנסמיטר מסוים, מפני שלא ראו את התופעה הזו כאשר השתמשו בנוירטרנסמיטר אחר (אצטילכולין). אמנם החוסר ב-DJ-1 קיים בכל תאי המיקרוגליה במוח, אבל האפקט הטוקסי שלו יבוא לידי ביטוי רק באזורים בהם יש דו שיח בין נוירונים באמצעות דופמין.

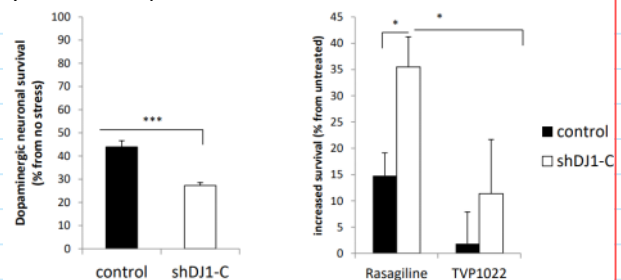


כדי לבדוק האם התופעה הזו ספציפית לדופמין המתפרק ע"י MAO, נעשה שת"פ עם פרופ' מוסא יודים שפיתח תרופה לפרקינסון בשם **Rasagiline** - מעכב של האנזים MAO.

עשו לתאים בתרבות סטימולציה עם דופמין, עם ובלי Rasagiline. ראו כי הסטימולציה בעזרת דופמין מעלה את ייצור הדיקלים החופשיים (ROS ו-NO), ושימוש ב-Rasagiline שמעכב את MAO מקטין את הייצור של רדיקלים חופשיים. **מסקנה:** השחרור של רדיקלים חופשיים בתגובה לדופמין מתווך ע"י האנזים MAO. עיכוב של MAO מקטין את אפקט הסטרס.

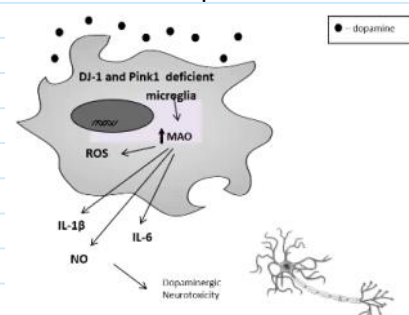


לאחר מכן לקחו את ה-supernatant (הנוזל שמופרש מהתאים) גם מהתאים עם ה-shRNA וגם מתאי מיקרוגליה רגילים, שמו אותו על תאים ניורוניים ובדקו את אחוז התמותה של הניורונים, עם או בלי Rasagiline. ניתן לראות כי ה-supernatant מתאי המיקרוגליה עם חוסר ב-DJ1 גורם ליותר תמותה של ניורונים (כמו שראינו קודם), אבל הטיפול ב-Rasagiline יכול לגרום לניורונים למות פחות.

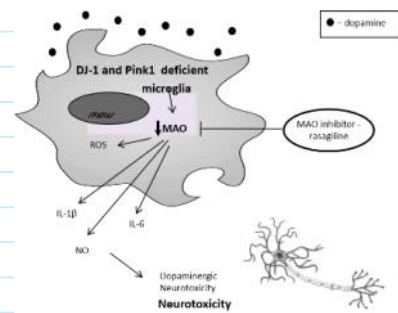


לסיכום:

מחסור ב-DJ1 בתאי מיקרוגליה -> עלייה בפעילות האנזים MAO -> עלייה מוגברת בשחרור רדיקלים חופשיים, IL-6 ו-IL-1β בעקבות עלייה בריכוז הדופמין -> סטרס לניורונים דופמינרגים -> תמותה של ניורונים דופמינרגים.

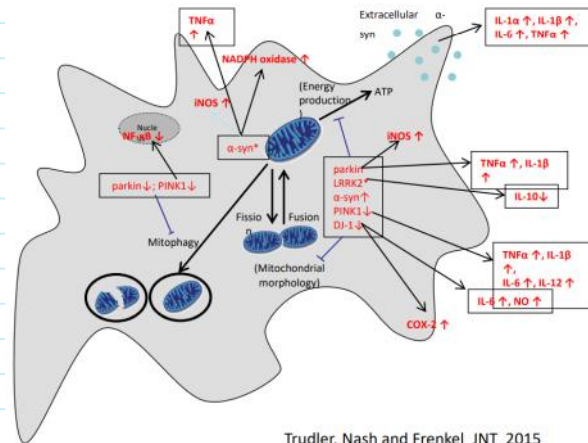


שימוש בחומר המעכב את MAO (Rasagiline) -> פחות פירוק דופמין -> פחות שחרור של רדיקלים חופשיים, IL-6 ו-IL-1β -> פחות סטרס -> פחות תמותה של תאים דופמינרגים. המחשבה היא שה-Rasagiline לא פועל על תאים ניורוניים אלא על תאי מיקרוגליה, שבהם מתרחשים תהליכים דלקתיים שיכולים לגרום לסטרס לתאים ניורוניים.



הקשר בין גנים הקשורים לפרקינסון לפרופיל הפרו-אינפלמטורי של תאי מיקרוגליה:

גנים שונים הקשורים לפרקינסון כמו LARK2, parkin ועוד יכולים לשבש את פעילות תאי המיקרוגליה ולגרום להם להיות יותר פרו דלקתיים. בעקבות כך תאי המיקרוגליה משחררים פקטורים שיכולים לגרום לסטרס לניורונים.

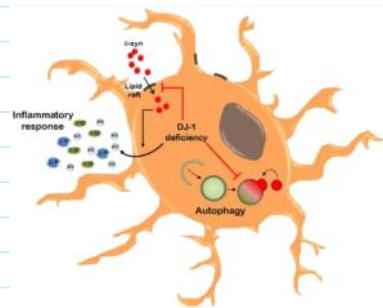


זה מחזיר אותנו לשאלה: **למה אין תיקון? למה הדלקת היא כרונית?** כנראה תאי המיקרוגליה משובשים, אולי בגלל נוכחות אלפא סינקלאין ואולי בגלל שינויים גנטיים הקשורים למחלה.

האם גנים הקשורים לפרקינסון משפיעים על יכולת המיקרוגליה לבלוע אלפא סינקלאין?

הראו כי חוסר ב-DJ-1 בתאי מיקרוגליה משנה את רמת הביטוי של **Lipid rafts** שנמצאים על דפנות תאי המיקרוגליה. ל-lipid rafts האלה יש תפקיד חשוב בקישור אלפא סינקלאין. פחות DJ-1 - פחות lipid rafts - פחות אלפא סינקלאין נקשר לתאי המיקרוגליה - פחות בליעה של אלפא סינקלאין.

בנוסף, החוסר ב-DJ-1 פוגע במנגנון הפירוק של האלפא סינקלאין. פירוק האלפא סינקלאין מתרחש בתהליך של **autophagy** - תהליך טבעי שקורה בתא המאפשר להיפטר מחלבונים שלא מקופלים כראוי או מפקטורים שנבלעו ע"י התא. המחסור ב-DJ-1 פגע גם בבליעה של אלפא סינקלאין וגם בפירוק שלו ע"י autophagy בתאי המיקרוגליה.



לסיכום, כל הניסויים שראינו יכולים להסביר מדוע הפגיעה ב-DJ-1 במיקרוגליה גורמת דווקא למחלת הפרקינסון. DJ-1 הוא רק דוגמה, יש הרבה גנים הקשורים למחלת הפרקינסון שיכולים להשפיע על פעילות המיקרוגליה.

בוחן: איזה מודל עכברי מקובל להשתמש בחקר מחלת הפרקינסון?

1. ללא ביטוי של אלפא סינקלאין
2. ביטוי אלפא סינקלאין מוטנטי
3. ביטוי מוגבר של DJ-1
4. כל התשובות נכונות

תשובה: 2

שיעור 10-11 - טיפולים אנטי-דלקתיים ודלקתיים במחלות ניווניות

יום חמישי 01 אוגוסט 2024 11:49

עם התפתחות המודלים העכבריים, התחילו להבין את תפקיד הדלקת במחלות ניווניות שונות. אנחנו יודעים שלדלקת יש צדדים מזיקים וצדדים מועילים.

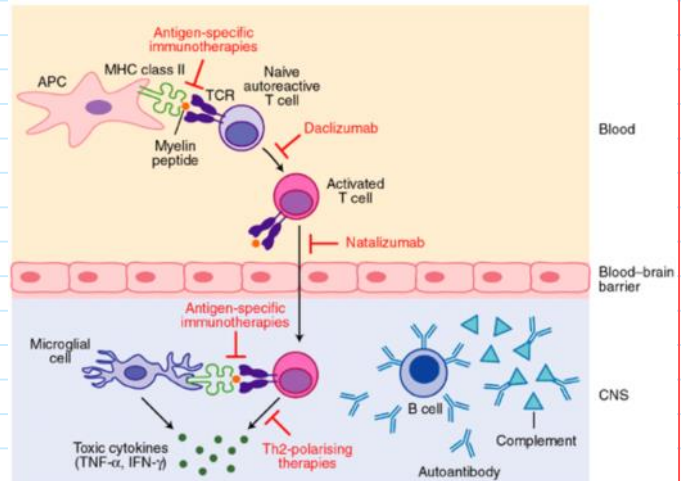
בהרבה מקרים טיפולים שיורידו את הדלקת יכולים להקטין את קצב הידרדרות המחלה. ברוב המחלות הניווניות של המוח, אנחנו לא יודעים בדיוק מה הסיבה ולכן רוב הטיפולים לא מרפאים לגמרי את המחלה אלא רק מקטינים את קצב ההידרדרות שלה. יש הרבה כלים שמאפשרים לעשות מודולציה של תהליכים דלקתיים.

טרשת נפוצה - כיום יש כ-10 תרופות שונות המאפשרות לשימוש בטרשת נפוצה. בכולן הטרנט המרכזי הוא תהליכים דלקתיים.

יש 4 אלמנטים מרכזיים בהם מתמקדים הטיפולים, בכולם המטרה היא לעצור דלקת שמגיעה מהפריפריה וחודרת למוח:

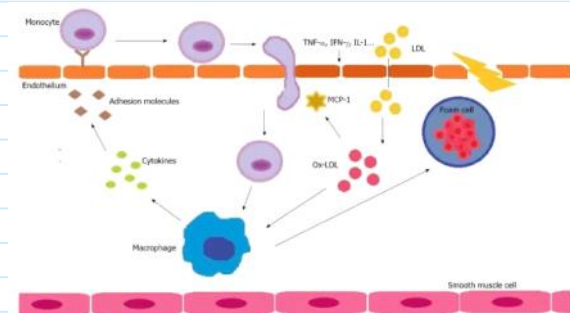
1. חסימת החדירה של תאי T למוח.
2. טיפול כימותרפי שמטרתו לפגוע בתאים במח העצם שיכולים להתפתח לתאים דלקתיים. ניתן לתקופה מאוד קצרה בגלל תופעות לוואי.
3. מניעת יציאה של תאי T מבלוטות הלימפה לדם.
4. הקטנת כמות תאי T ו-B בדם.

כל הטיפולים האלה הם לא ספציפיים לטרשת נפוצה אלא מורידים תהליך דלקתי באופן כללי. הטיפולים האלה לא עוזרים לכל החולים בצורה אחידה. כמו כן, הם עוזרים בשלבים הראשונים של המחלה, אבל בשלבים מאוחרים יותר כשהמחלה הופכת לניונית זה כבר לא עוזר.



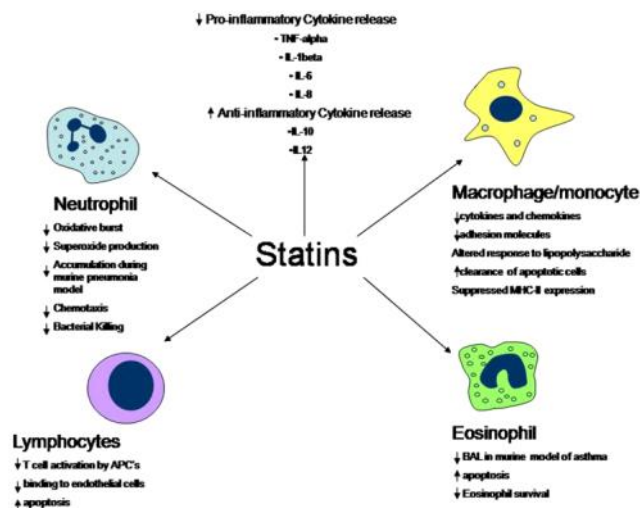
סטטינים (HMG-CoA reductase inhibitors) - חומרים המונעים ייצור כולסטרול.

נשא הכולסטרול LDL יכול לעבור תהליכים של אוקסידציה ושיוקע על גבי כלי הדם. בעקבות כך באים מונוציטים שמנסים לבלוע אותם אך לא תמיד מצליחים לפרק אותם. בסופו של דבר זה יכול לגרום לסטרוס אוקסידטיבי ודלקת שמתפתחת בסביבת כלי הדם של המוח.



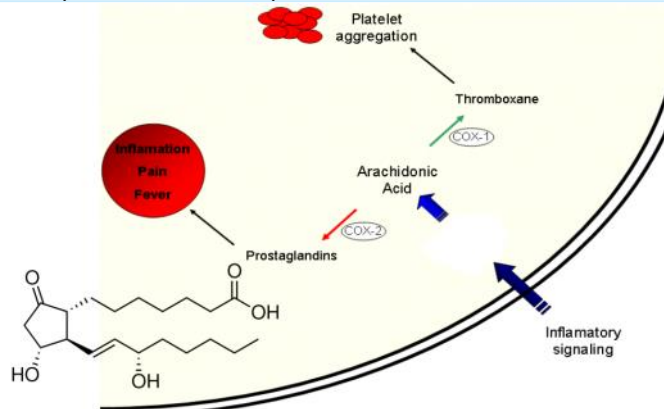
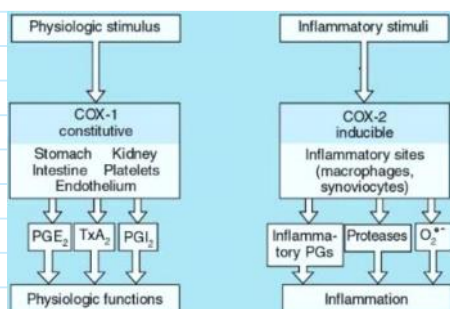
הראו כי סטטינים יכולים לעזור בהקטנה של תהליכים דלקתיים בדרכים שונות:

- הקטנת היכולת של תאי T לעבור אינטראקציה עם APCs.
 - הקטנת הפעילות של המקרופאגים/מונוציטים - נהיים פחות מאוקטבים ומשחררים פחות ציטוקינים
 - הקטנת הנדידה של נוטרופילים
- ועוד דרכים המופיעות בתרשים:

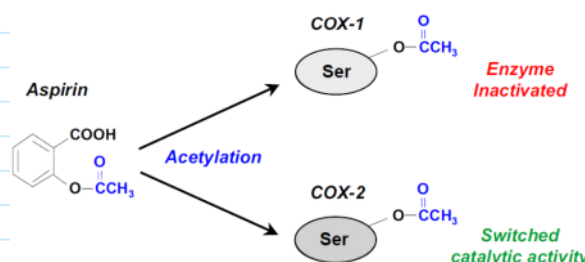


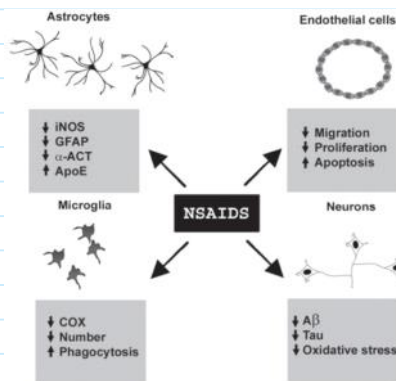
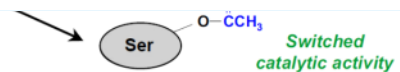
במחקרים קליניים ראו כי כשנאנשים לקחו סטטינים לאורך הרבה זמן, הייתה ירידה בסבירות שלהם לחלות במחלות ניווניות של המוח וירידה בדלקת. יש ניסיונות לבדוק האם סטטין יכול לשמש כטיפול למחלות ניווניות של המוח. ניסו את זה במודלים של חיות וראו כי אם נותנים להן דיאטה הכוללת סטטינים, יש ירידה בכמות הכולסטרול וב- β . אבל אז התחילו לעשות ניסיונות קליניים אצל אנשים ורובם נכשלו. לא ברור למה זה עבד טוב במודלים של חיות ולא של אנשים. בנוסף, יש גם **תופעות לוואי לסטטינים**: סטטינים מורידים את ייצור הכולסטרול, אבל הכולסטרול חשוב למוח - המוח הוא רקמה מאוד שומנית, בנוי מ-60% ליפידים. הכולסטרול חשוב ליצירת סינפסות במוח וליצירת שכבת המיאלין. יש עדויות לכך שחלק מהאנשים שלוקחים סטטינים בצורה רציפה מתחילים לפתח בעיות זיכרון. כלומר, לשימוש בסטטינים יש יתרונות וחסרונות - למי שיש בעיות של עודף כולסטרול הסטטינים עוזרים, אבל הם לא בהכרח עוזרים למחלות דמוניות (או שצריך לשנות את המינונים ולהיות זהירים בשימוש בהם)

פרוסטגלנדינים - מרכיבים דלקתיים המיוצרים מפירוק של חומצה ארכידונית. חומצה ארכידונית היא סוג של חומצת שומן העוברת פירוק ע"י האנזימים COX-1 ו-COX-2. הפרוסטגלנדין נוצר כתוצאה מפירוק של חומצה ארכידונית ע"י COX-2. הוא קשור לעלייה באקטיבציה של מיקרוגליה, ייצור ציטוקינים, עלייה בחום ודלקת. מנסים ליצור מעכבים לאנזימים המייצרים פרוסטגלנדינים. **Cyclo-oxygenase (COX)** - האנזים המפרק חומצה ארכידונית. יש שני סוגי COX: COX-1 ו-COX-2. פירוק חומצה ארכידונית ע"י COX-2 גורם לייצור פרוסטגלנדינים ומשפיע על תהליכים דלקתיים. לעומת זאת, ל-COX-1 יש תפקודים פיסיולוגיים חשובים שיכולים להשפיע בין היתר על פעילות הקיבה, הכליות, המעיים, טסיות דם.



אספירין - תרופה המעכבת את COX ויכולה לשמש כטיפול נגד דלקת. זוהי תרופה לא סלקטיבית - יכולה לעכב גם את COX-2 וגם את COX-1. אחת מתופעות הלוואי הנובעות משימוש מוגבר באספירין היא אולקוס, פגיעות בקיבה, פגיעות בתהליכים הקשורים לטסיות דם. כל אלה נובעים מהעכוב של COX-1 שיש לו תפקיד פיזיולוגי חשוב. לכן לא טוב להשתמש בו לתקופה ארוכה בתור טיפול אנטי דלקתי. לכן פיתחו תרופות שונות שהן **non-aspirin NSAIDs (Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs)**. התרופות השונות נבדלות ביניהם ברמת הספציפיות ל-COX-2/1. ההבדל נובע משינויים מבניים קטנים. מנסים לייצר תרופות שהן כמה שיותר ספציפיות ל-COX-2. באופן כללי צריך להיות זהירים בשימוש ב-NSAIDs בגלל תופעות הלוואי.





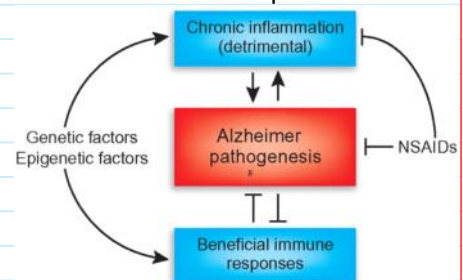
האם אפשר להשתמש ב-NSAIDs לטיפול במחלות ניווניות של המוח?

ייתכן ש-NSAIDs יכולים להקטין תהליכים דלקתיים שמתרחשים במוח בדרכים שונות:

- הקטנת הביטוי של רדיקלים חופשיים במיקרוגליה ואסטרוציטים
- ירידה בפקטורים הקשורים לסטרס
- הגברת הבליעה של המיקרוגליה
- עלייה בביטוי של ApoE (נשא כולסטרול) שיכול לתמוך בפעילות האסטרוציטים
- ירידה ב- β , Tau, ובסטרס האוקסידיטיבי בתאי עצב ועוד.

טיפול באלצהיימר - חשבו שאולי NSAIDs יכולים לשמש כטיפול שמוריד את התסמינים

של מחלת אלצהיימר ע"י הורדת הדלקת הכרונית. ניסו את זה בהתחלה במודלים עכבריים: בעכברים שמבטאים ביתר $A\beta$, דווח על כך ש-NSAIDs יכולים להוריד את כמות המשקעים העמילואידיים ולהוריד את האקטיבציה של המיקרוגליה. מעט מאוד מחקרים דיווח על כך שלא ראו שום אפקט לטיפול במודלים האלה.



לאחר מכן הטיפולים האלה אושרו לטיפול באנשים. לפני שמאשרים תרופה לטיפול באנשים, היא צריכה לעבור ניסויים קליניים.

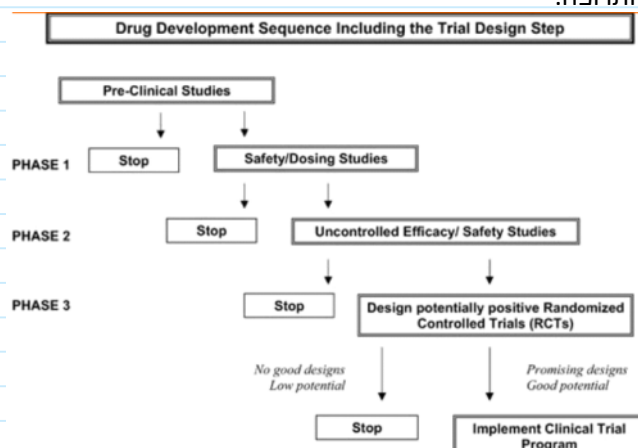
שלבים של ניסויים קליניים - אם הניסויים הפרה-קליניים (בבע"ח) הראו שלתרופה יש אפקט מזיק, לא מתחילים בכלל ניסויים קליניים. אם בניסויים הפרה-קליניים לא נמצאה תמותה/אפקט מזיק, עוברים לניסויים הקליניים המחולקים לכמה שלבים:

Phase 1: בדיקת הבטיחות של הטיפול - לבדוק שאין שום אפקט מזיק אצל אנשים. בשלב זה נותנים את הטיפול לאנשים בריאים ובודקים את השפעתו (במינונים/ריכוזים שונים). רק אם לא נמצא שום אפקט מזיק, עוברים לשלב השני.

Phase 2: בשלב זה כמות הנבדקים כבר יותר גדולה (בדר"כ עשרות-מאות חולים ב-1-2 מרכזים), והנבדקים הם חולים במחלה. נותנים את הטיפול בריכוז מסוים שמצאו שהוא הריכוז המתאים למשך מספר ימים, ואז בודקים שאין אפקט מזיק וגם שהטיפול גורם להטבה מסוימת במצב החולים. אם רואים שאין אפקט מזיק ויש אפקט מובהק של הטבה, עוברים לשלב השלישי.

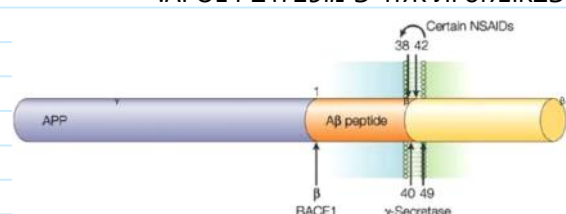
Phase 3: בשלב זה כמות הנבדקים גדולה יותר (אלפים) והמחקר נעשה במספר מרכזים גדול יותר. אם אין אפקט מזיק ויש אפקט מובהק של הטבה, התרופה מאושרת לשימוש באנשים.

גם אחרי שמקבלים אישור ועוברים לטפל באוכלוסייה רחבה לפעמים קורים אפקטים מזיקים בלתי צפויים, ובמקרה הזה עוצרים את שיווק התרופה.



כאשר ניסו לטפל ב-NSAIDs באנשים החולים באלצהיימר, ברוב הגדול של המקרים לא היה שום אפקט מועיל.

בחלק מהאוכלוסיות ראו אפקט מועיל של אחד מה-NSAIDs, כנראה כי הוא משנה את הפעילות של האנזים גמא סקרטאז שחותך $A\beta$. ייתכן שבאוכלוסיות אלה יש מוטציה ב-APOE4.



לסיכום, כאשר ניסו לתת לחולי אלצהיימר טיפול אנטי דלקתי כדי לטפל במחלה, לרוב הטיפול נכשל. עדיין יש עדויות לכך שאצל מי שלקח טיפולים אנטי דלקתיים כטיפול למחלות אחרות, אולי הטיפולים האלה גם יכולים להוריד את קצב ההידדרות של מחלת האלצהיימר, אבל זה נתון לויכוח.

טיפול בפרקינסון - במודלים עכבריים של פרקינסון שנוצרו ע"י ביטוי אלפא סינוקלאין מוטנטי/הזרקת MPTP/הזרקת LPS, ניסו להשתמש בתרופות אנטי דלקתיות שונות כמו NSAIDs, minocycline (אנטיביוטיקה בעלת אפקטים אנטי דלקתיים) ועוד. במודלים אלה הטיפולים האנטי-דלקתיים עזרו. אבל נשאלת השאלה האם הטיפולים האלה עזרו בגלל שהמודלים עצמם נבנו בעיקר על מודלים של דלקת - למשל הזרקת LPS או MPTP שגורמים לדלקת.

התחילו לנסות לבדוק את הטיפולים הללו על אנשים. לא היה להם אפקט מזיק. ראו ירידה של כ-15% בשכיחות הפרקינסון בקרב אנשים שהשתמשו ב-NSAIDs nonaspirin. רוב הטיפולים (כולל אספירין) לא הראו שום אפקט.

סיבות אפשריות לכך שהניסויים הקליניים לא הצליחו:

1. ייתכן שנתנו את הטיפול לאנשים שנמצאים בשלבים מאוד מאוחרים של המחלה, אולי צריך לתת את הטיפול בשלב יותר מוקדם כדי שהוא יעזור.
2. אולי המינונים שניתנו היו לא מתאימים או נמוכים מדי בשביל לגרום לאפקט מועיל.
3. אולי נתנו תרופות אנטי דלקתיות לא נכונות / לא ספציפיות מספיק.

ניסו לתת NSAIDs גם כ**טיפול בחבלות מוחיות (traumatic brain injury - TBI)** אבל גם שם זה לא הראה אפקט מועיל לטווח ארוך.

אולי צריך לעשות מודולציה של הדלקת בצורה יותר ספציפית: במקום לעצור את הדלקת באופן כללי, צריך לנסות לעצור את האפקטים המזיקים של הדלקת ולהגביר את האפקטים המועילים שלה.

חיסון - אמצעי ריפוי מונע - מטפל בגורמים מזיקים לבריאות כמו נגיפים ומחלות שונות לפני שהם מספיקים לפגוע בגוף. **חיסון פעיל:** גורם לייצור נוגדנים בגוף. למשל אנטיגן מוחלש.

חיסון סביל: הזרקת נוגדנים.

אדוארד ג'אנר נחשב לרופא הראשון שגילה את החיסונים (קבע את השם Vaccine), כשהמציא בשנת 1796 את החיסון נגד אבעבועות שחורות (Variola major).

הוא ראה כי חולבות שחלבו פרות חולות לא חלו במחלה. הנגיעה בגורם המחלה גרמה להן איכשהו להתחסן נגד אותו מרכיב פתולוגי. הוא ניסה לקחת את המורסה מהפרות החולות (המוגלה המכילה את הוירוס), להזריק אותה לבן של הגנן שלו לאותו ולראות אם הוא מוגן מהמחלה. זה באמת עבד - הילד לא חלה במחלה. בהתחלה אנשים צחקו עליו ולא קיבלו את הרעיון שלו, לקח לו קרוב ל-20 שנה לפרסם את המאמר. יש הטוענים שנפוליאון שמע את הרעיון הזה ובעקבות כך התחיל לחסן את החיילים שלו.

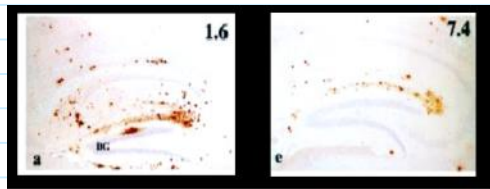
האם ניתן לפתח חיסון למחלות ניווניות של המוח?

כדי לפתח חיסון למחלה, צריך לדעת את הגורם למחלה. **מה הגורם למחלת האלצהיימר? אולי בטא עמילואיד.**

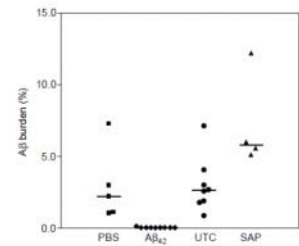
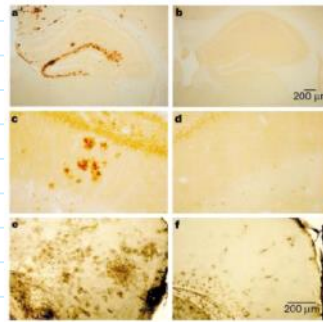
ניסו לפתח **נוגדן כנגד בטא עמילואיד** - הנוגדן נקשר לבטא עמילואיד, מונע את היקשרות המונומרים אחד לשני וע"י כך מונע את היווצרות המבנה האוליגומרי הרעיל. ראו שזה עבד בתרבויות תאים עם מוטציה בבטא עמילואיד, ועזר למנוע תמותה של התאים. בתמונות הבאות ממיקרוסקופ אלקטרוני אפשר לראות כי הנוגדן נגד בטא עמילואיד הופך את המבנה של A β ממבנה פיברילרי מזיק למבנה אמורפי שאינו מזיק לתאים.



ואז החליטו להעביר את זה *in vivo* ולעשות **חיסון נגד A β אוליגומרי** - לקחו עכברים טרנסגניים שיש להם משקעים עמילואידים במוח, וחיסנו אותם עם אנטיגן של A β , על מנת לגרום למערכת החיסון לייצר נגדו נוגדנים. ראו כי בעוד שעכברים רגילים פיתחו משקעים עמילואידים, בעכברים שחוסנו נגד A β לא נוצרו משקעים עמילואידים. החיסון הקטין את הצטברות החלבון הרעיל ושיפר את ההתנהגות במבחני זיכרון. הראו שאפשר גם לקחת את החיסון כתרסיס לאף.



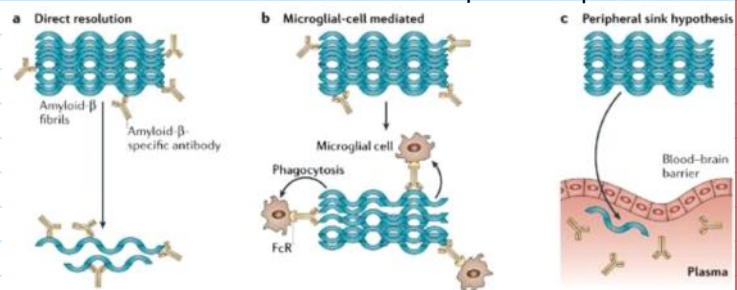
חיסון או נתינת נוגדן כנגד הבטא עמילואיד



אפשר גם **להזריק נוגדנים נגד Aβ לפריפריה**, כך שהגוף לא יצטרך ליצור את הנוגדנים בעצמו. הנוגדנים מסוגלים למנוע היווצרות משקעים עמילואידים. למרות שהנוגדן הוא גדול, הוא לעיתים מסוגל לחדור את BBB - אולי במחלת אלצהיימר יש פגיעה במחסום הדם-מוח, אולי יש מונוציטים שנקשרים לחלק ה-Fc של הנוגדן וגוררים אותו למוח יחד איתם.

מנגנונים אפשריים לפעילות הנוגדן:

1. מצליח "לפרוס" את המשקעים העמילואידיים ע"י היקשרות ל-Aβ.
2. גורם לאקטיבציה של תאי המיקרוגליה כך שהם יצליחו לפרק את המשקעים.
3. אולי הנוגדן בכלל לא חודר למוח - יש תהליכים בהם מרכיבים מהמוח עוברים ניקוז לפריפריה דרך המערכת הלימפטית, ולכן אצל חולים במחלה לעיתים ניתן לראות Aβ בדם. תהליך הניקוז קורה בעיקר כשאנחנו ישנים וזה חשוב לניקוי של Aβ. לחולי אלצהיימר יש הרבה פעמים בעיות בשינה. ייתכן שהנוגדן נקשר ל-Aβ שנמצא בדם, מסלק אותו ומסיט את שיווי המשקל בין המוח לפריפריה, כך שיותר Aβ יעבור ניקוז מהמוח לפריפריה.



הניסויים במודלים עכבריים הצליחו, ואז עברו לניסויים קליניים באנשים.

ניסויים קליניים של החיסון ל-Aβ:

1. בשלב 1 - הזריקו לאנשים בריאים את ה-Aβ בדוזות שונות. לא היה אפקט מזיק.
2. בשלב 2 - הזריקו את החיסון לחולי אלצהיימר, נתנו 5 מנות במשך שנה. 6% מהאנשים פיתחו דלקת קרום המוח, אחד נפטר. הניסוי נעצר. ראו כי אצל אנשים שכן פיתחו נוגדנים נגד Aβ בעקבות החיסון, הקוגניציה הידרדרה פחות מהר. הגיעו למסקנה כי אולי באמת יש אפקט מועיל להיווצרות הנוגדן ל-Aβ הגורם לבוסט של מערכת החיסון, אבל אולי לכל התהליך הזה יש גם אפקט מזיק. לכן החליטו במקום חיסון לתת רק את הנוגדנים נגד Aβ (חיסון סביל).

כל מיני חברות ייצרו נוגדנים נגד Aβ שהם humanized. נעשו טיפולים רבים באנשים, רובם לא הראו אפקט מזיק אבל גם לא הצליחו, ולכן הופסקו. במרץ 2019, חברת Biogen שהגיעה לפריצה גדולה בתחום הנוגדנים נגד Aβ הכריזה על כישלון הטיפול שלהם. אבל ביולי 2019 הטיפול שלבאורה נכשל חזר לחיים - לקחו את אותן תוצאות של הניסויים הקליניים והסתכלו עליהן עם סטטיסטיקה שונה. ראו שבשנתנו מינון כפול לאוכלוסייה מסוימת היה אפקט של 10-14% הטבה בקצב ההידרדרות של המחלה. זה מאוד שימח והביא לתחייה מחדש של הרעיון של נוגדנים נגד Aβ כטיפול אפשרי לאלצהיימר. ב-2020 הגישו בקשה FDA והטיפול אושר כטיפול ראשוני לאלצהיימר (למרות שהייתה על כך מחלוקת). בעקבות האישור, המניות של החברה קפצו למעלה. הבעיה: ההזרקה עולה 50000 דולר לחולה לשנה. ציפו כי חברת הביטוח של ארה"ב תסבסד את זה אבל הם סירבו, ולכן בסוף זנחו את הטיפול. במקביל צצו חברות אחרות שייצרו נוגדנים נגד Aβ. הטיפול בנוגדנים לא עוצר את המחלה אך בחלק מהחולים מקטין את ההידרדרות בכ-15%. לפני כמה שבועות טיפול מסוג זה אושר גם בארץ. אבל טיפול לשנה עולה 26500 דולר וזה לא בסל הבריאות (: בכל זאת זה מעורר תקווה שאולי טיפולים דלקתיים יכולים לשמש כטיפול לאלצהיימר, לפחות לחלק מהאוכלוסייה. אולי גם שילוב של טיפול זה עם תרופה אחרת יכול לעזור.

EAE בעכברי מודל לאלצהיימר - רצו לבדוק:

1. האם עכברים טרנסגניים עם מוטציה ב-APP (עכברי מודל לאלצהיימר) שיגרמו להם ל-EAE יפתחו מחלה יותר חזקה מעכברים רגילים.
2. האם חיסון ב-Aβ באותה צורה שבה מחסנים כדי ליצור EAE (עם אדג'ובנט ו-pertussis toxin) יכול לגרום לדלקת במוח. אם כן, זה יכול לעזור לנו להבין את הקשר בין Aβ לבין דלקת במחלת האלצהיימר.

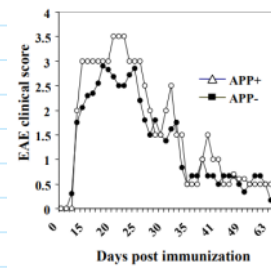
תוצאות:

1. כאשר חיסנו עכברים ב-MOG באופן הגורם למחלת EAE והשוונו בין עכברים מבוגרים רגילים לעכברים עם משקעים עמילואידיים, לא ראו הבדלים סיגניפיקנטיים בהתפתחות המחלה.

Immunization MOG/CFA

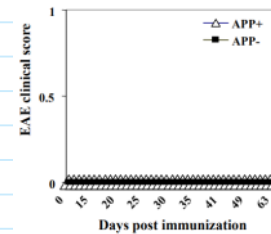


Immunization MOG/CFA



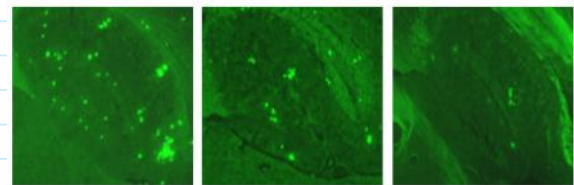
2. כשחיסנו ב- $A\beta$ באופן דומה לאופן בו גורמים ל-EAE, לא התפתחה מחלה של EAE. כלומר ההזרקה לא גרמה לדלקת במוח.

Immunization $A\beta$ /CFA



אבל, ראו שאצל עכברים עם APP מוטנטי שגרמו להם EAE הייתה ירידה משמעותית בשטח האזורים במוח בהם יש משקעים עמילואידיים במוח וירידה בכמות ה- $A\beta$ במוח. זה קרה גם בעכברים שחוסנו ב-MOG וגם בעכברים שחוסנו ב- $A\beta$. כלומר משהו ב-EAE גרם לניקוי המשקעים העמילואידיים. העכברים שחוסנו ב- $A\beta$ פיתחו נוגדן נגד $A\beta$, אבל העכברים שחוסנו ב-MOG לא פיתחו נוגדן נגד $A\beta$. כלומר, הירידה במשקעים העמילואידיים קרתה בלי ליצור תגובה דלקתית ספציפית נגד $A\beta$.

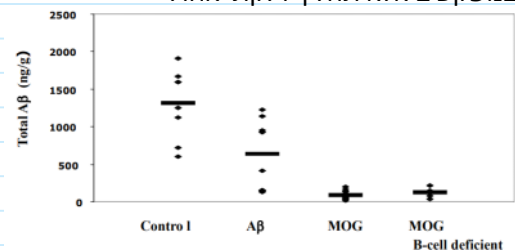
Untreated $A\beta$ (1-40) EAE



Amyloid Fibril
(Thioflavin-S)

האם האפקט תלוי נוגדנים?

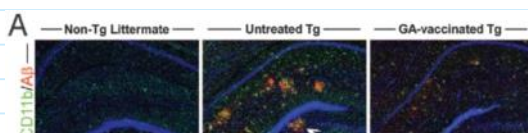
לקחו חיות מודל שבהן יש מוטציה ב-T_H17 שלא מאפשרת להם לייצר נוגדנים, וגרמו בהם למחלה של EAE. גם החיות שמייצרות נוגדנים וגם החיות שלא מייצרות נוגדנים חלו ב-EAE, ובשתייהן הדלקת הקטינה את המשקעים העמילואידיים. כלומר, נוצרה דלקת שאין בה שום יצירת נוגדנים נגד $A\beta$, ועדיין יש ירידה במשקעים העמילואידיים. כנראה הנוגדן הוא לא זה שגרם לירידה במשקעים אלא תהליך דלקתי אחר.



אמנם ה-EAE בעכברים הוריד את המשקעים העמילואידיים, אבל זה גרם למחלה. אנחנו לא רוצים לטפל במחלה אחת ע"י גרימת מחלה אחרת. בטרשת נפוצה ראינו כי **הקופקסון (GA)** היא תרופה שהכוונה המקורית שלה הייתה לגרום לטרשת נפוצה אבל בסופו של דבר ריפאה את המחלה. הקופקסון מורכב מ-4 חומצות אמינו שנמצאות בחלבון המיאלין הקשורות זו לזו בצורה אקראית. ניסו לתת את ה-GA כחיסון לאותם עכברים עם משקעים עמילואידיים, ולהשוות לעכברים שקיבלו MOG או שקיבלו חיסון עם $A\beta$. התוצאות:

- העכברים שחוסנו ב-MOG פיתחו מחלה של EAE, בעוד שהעכברים שקיבלו $A\beta$ או GA לא פיתחו מחלה של EAE.
- העכברים שחוסנו ב- $A\beta$ פיתחו נוגדנים נגד $A\beta$, בעוד שהעכברים שקיבלו MOG או GA לא פיתחו נוגדנים נגד $A\beta$.
- ה-GA הצליח להקטין את המשקעים העמילואידיים ואת כמות ה- $A\beta$ במוח בלי לגרום לאפקט של מחלה.

יש מחקרים שהראו כי ה-GA מאקטב תאי מיקרוגליה וגורם להם להיות יותר בולעניים ולשחרר פקטור אנטי דלקתי שיכול לעזור.



Group	Mice per group	EAE score	Anti $A\beta$ antibody (IgG 1:500)	Total brain $A\beta$ (ng/ml)	% Area of thioflavin positive $A\beta$ plaques (hippocampus)
Control	8	0	0	1308.1 ± 179.3	2.6 ± 0.4
$A\beta$	8	0	0.75	633.3 ± 166.8 *	0.83 ± 0.3 *