

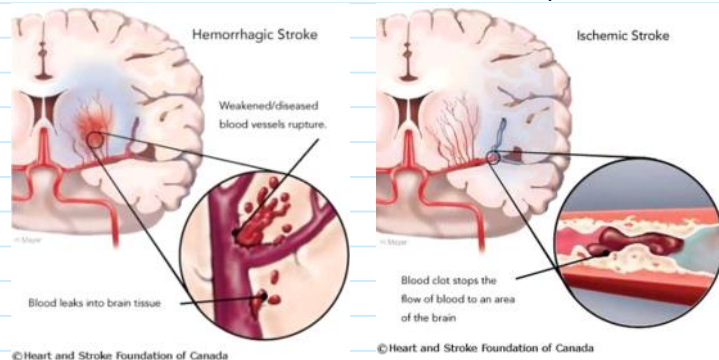
המוח זקוק לאספקת דם שוטפת על מנת לאפשר פעילות תקינה. הוא צורך קרוב ל-20% מהחמצן והגלוקוז של הגוף.

אירוע מוחי (שבץ) מתרחש כאשר נוצרת הפסקה פתאומית באספקת דם וחמצן לחלק מרקמת המוח ותאי העצב, אשר במהלכה וכתוצאה ממנה נגרם הרס לרקמה ונזק לתפקודי המוח. כשתאי עצב נפגעים, מתחילה "תגובת שרשרת" - התאים המקיפים את האזור שנפגע עלולים גם הם להינזק ולעבור אפופטוזיס. נזק זה עלול להוביל לליקויים כמו קשיים בדיבור, להפרעות בהליכה, לאיבוד זיכרון, לחולשת פלג גוף, או הפרעות בשדה הראייה.

סוגי שבץ:

שבץ איסכמי (85% מהמקרים) - שבץ הנגרם כתוצאה מאוטם - חסימה בכלי דם במוח ע"י קריש שמובילה לירידה באספקת החמצן לתאי המוח באזור. גורם נוסף להיווצרות אוטם מוחי הינו קריש דם זעיר או חומר הנוצר בעורקים, מחוץ למוח או הלב המשתחרר ונסחף לכלי דם במוח וגורם לחסימתו. אם יש היצרות של כלי הדם כתוצאה מכולסטרול ששוקע בהם, אז גם קריש יותר קטן יכול לגרום לחסימה ולשבץ.

שבץ המורגי (15% מהמקרים) - שבץ מוחי כתוצאה מדימום. דימום תוך מוחי מתרחש כתוצאה מדליפה או קרע בעורק במוח. הדימום מפעיל לחץ סביב רקמת המוח וגורם לנזק לרקמה. בנוסף לכך, תאי עצב מסביב לאזור הדימום אינם מקבלים אספקת דם תקינה וגם הם ניזוקים. הגורם השכיח ביותר לדימום מוחי הנו יתר לחץ דם. כשיש שבץ מסוג זה, אנחנו רוצים כמה שיותר מהר לנקז את הדם שלוחץ על המוח וגורם לתעוקה.



מספר נתונים על שבץ:

- אירוע מוחי הוא הסיבה העיקרית לנכות באוכלוסייה הבוגרת והסיבה השלישית למוות בעולם המערבי. כ-15,000 מקרי אירוע מוחי מדווחים מדי שנה בארץ.
- הגיל הממוצע אצל נשים הוא 72 ואצל גברים 68.
- נתונים מהשנים האחרונות מתארים התרחשות אירוע מוחי גם בקרב צעירים בשנות ה-20 וה-30 לחייהם, כאשר כ-8% מהחולים נפגעים מתחת לגיל 50 וכ-25% נפגעים מתחת לגיל 60.

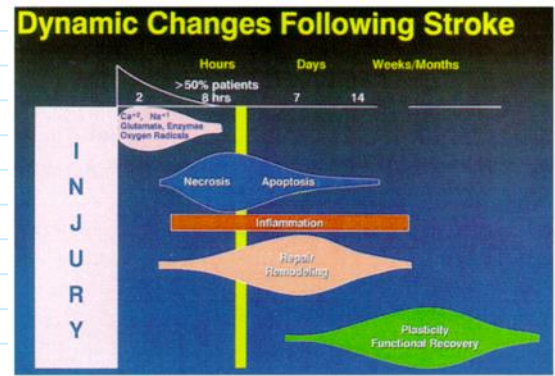
גורמי סיכון:

- יתר לחץ דם
- סוכרת
- רמת שומנים גבוהה בדם
- עישון
- השמנת יתר

הטיפול המקובל: אם יש שבץ, חשוב ללכת לבית חולים מיד כדי לנקז את הדם ולהסיר את קריש הדם. הטיפול המקובל הוא תרופה שממסה קרישי-דם (T-PA), שיעילה בתנאי שניתנת 3 שעות מתחילת האירוע. תרופה זו יכולה למנוע או להקטין את הנזק המוחי. לכן השעות הראשונות הן קריטיות, צריך לנקז את הדם / להוציא את קריש הדם כמה שיותר מהר כדי להעלות את הסיכוי לריפוי. הריפוי עצמו בשבץ הוא עצמי - הגוף מרפא את עצמו. הדלקת משחקת תפקיד בשלב מאוחר יותר, והיא יכולה להגביר את הנזק או לעזור לתהליכי התיקון.

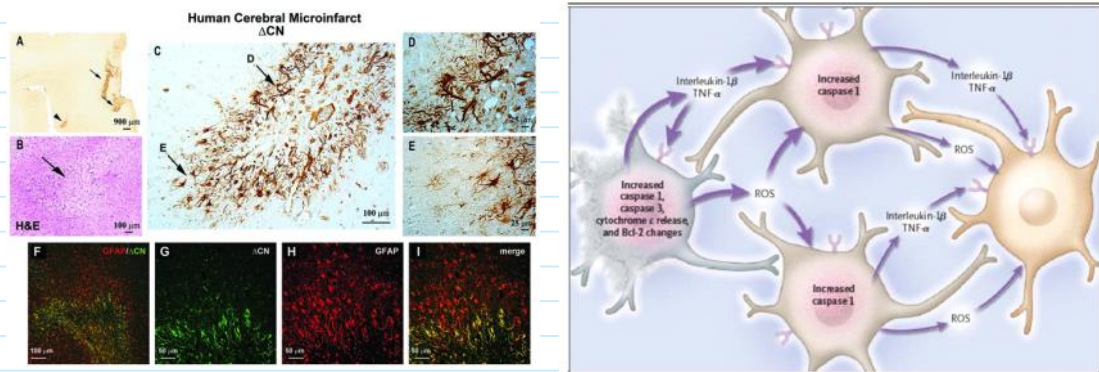
ציר זמן של שבץ:

- מוות נקרוטי** מהיר של תאים כתוצאה מחוסר באנרגיה (חמצן וגלוקוז). בשלב זה מתחילים להתפתח תהליכים דלקתיים.
- מוות אפופטוטי** - הגוף בהרבה מקרים מצליח לספק דם לאזור השבץ מאזורים אחרים, אבל יש סטרסורים שמשפיעים על תאים בסביבה, מפעילים תהליכים דלקתיים ויכולים לגרום לאפופטוזיס.
- Repair** - תהליכי תיקון.
- פלסטיות והתאוששות מבנית** - עם הזמן כשהמערכת מתייצבת יכולה להופיע גמישות, כך שאזורים אחרים במוח מפצים על האזורים הפגועים, ומתרחש תיקון וחזרה לשגרה. הדלקת משחקת תפקיד גם בשלב של הנזק וגם בשלב התיקון.

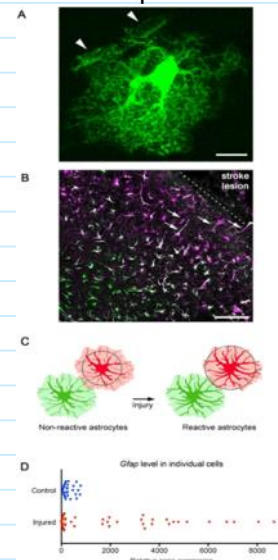


למה יש אקטיבציה של מערכת החיסון?

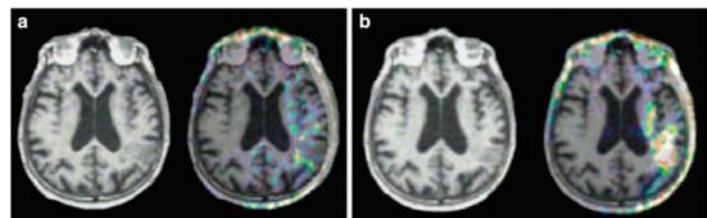
כשיש מוות נקרוטי של תאים במוח, התאים משחררים פקטורים כמו $\text{TNF-}\alpha$ ו- $\text{IL-1}\beta$, כאילו וירוס חדר. פקטורים אלה גורמים לאקטיבציה של מיקרוגליה ואסטרוציטים. המיקרוגליה והאסטרוציטים לא יודעים מה זה שבץ, הם רק יודעים שמהו לא בסדר קרה ומגיבים כאילו חדר פתוגן - יש עלייה ב-TLRs ושחרור רדיקלים חופשיים שגורמים לאפופטוזיס. בשלב זה הדלקת היא מזיקה. בתמונות משמאל רואים **אקטיבציה של אסטרוציטים** שיוצרים חיץ המבודד את הסביבה הפגועה מהסביבה הבריאה.



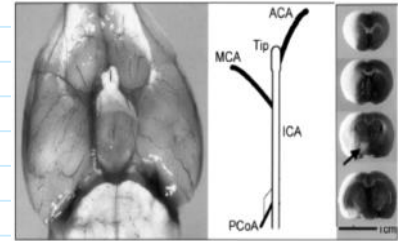
שלד התא של האסטרוציטים משתנה כאשר הם מאוקטים - אסטרוציטים שקרובים לאזור הפגיעה הם מאוקטים יותר וקצרים יותר. התאים הרחוקים מאזור הפגיעה הם פחות ריאקטיביים.



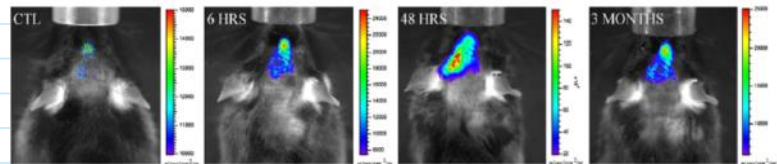
שפעול של תהליכים דלקתיים במוח לאחר שבץ - בתמונות a ו-b רואים משמאל מוח של אדם בריא ומימין מוח של אדם שלקה בשבץ. ברוק-צהוב - צביעה של מרקרים שקשורים לאקטיבציה של אסטרוציטים. a - אחרי 5 ימים, b - אחרי 13 ימים. ניתן לראות כי אחרי 5 ימים כבר יש אקטיבציה של האסטרוציטים ואחרי 13 ימים האקטיבציה הרבה יותר חזקה.



עכבר מודל לשבץ (MCAO) - כדי ליצור עכבר מודל, מכניסים פילמנט (מעין מקלון) ובעזרתו חוסמים כלי דם מרכזי שמוביל דם למוח. אחרי כשעתיים מוציאים את המקלון כדי לחדש את זרימת הדם ולאפשר חדירה של תאים דלקתיים למוח. מימין רואים פרוסות מהמוח של העכבר, כאשר הצבע הכהה מייצג תאים חיים והצבע הלבן מייצג תאים מתים. כדי לחשב את רמת הפגיעה לוקחים את גודל האזור התקין ומחסירים ממנו את גודל האזור הפגוע. למה לא פשוט מסתכלים על גודל האזור הפגוע? כי באזורים אלה יש בצקת כתוצאה מנוזלים שנכנסים לרקמה, ולכן הם הרבה יותר גדולים.

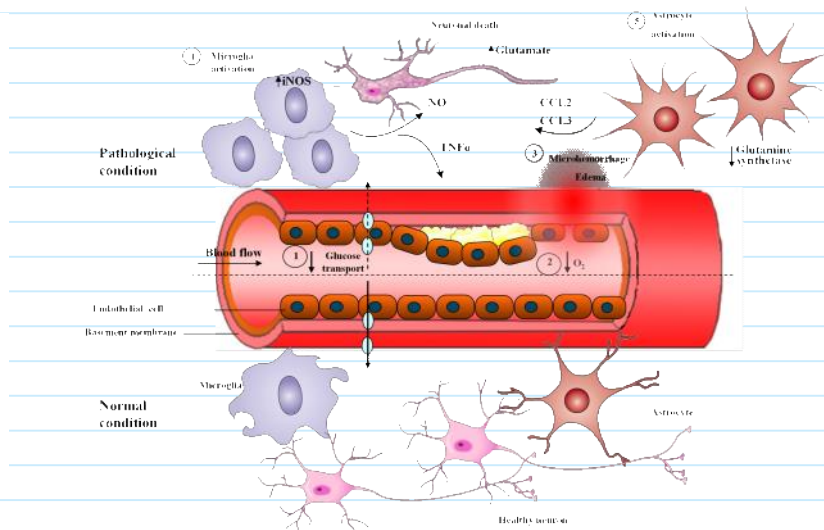
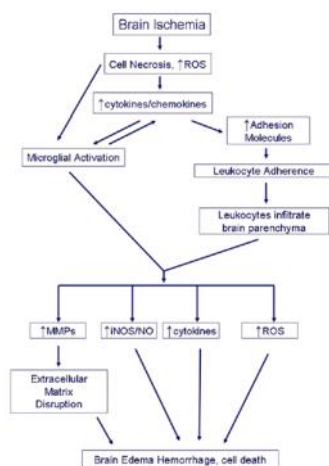


התמונות הבאות מראות עכבר מודל בזמנים שונים לאחר השבץ. במקרה הזה העכבר הוא עכבר טרנסגני שבו TLR2 מחובר למרקר פלורסנטי. ניתן לראות כי יש הפעלה של TLR2 למרות שלא הייתה חדירה של פתוגן.



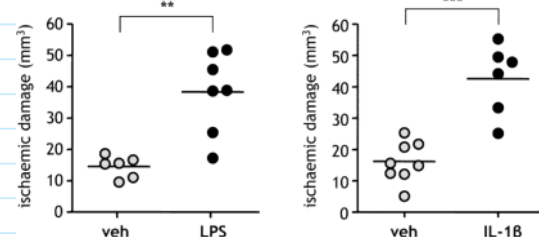
התהליך המתרחש בשבץ:

פגיעה בכלי דם -> מחסור בחמצן וגלוקוז -> פגיעה בנורונים - מוות נקרוטי -> הנורונים מפרישים פקטורים של סטרס - יש עלייה ברדיקלים חופשיים -> הפרשת ציטוקינים וכימוקנים -> אקטיבציה של אסטרוציטים ומיקרוגליה -> האסטרוציטים יוצרים את החיץ ותאי מיקרוגליה תוקפים תאים במוח. בנוסף, יש עלייה בביטוי מולקולות אדהזיה -> כניסה של לויקוציטים מהפריפריה למוח -> דלקת הגורמת נזק למוח. בסופו של דבר חל תהליך של למידה - המערכת מבינה שהיא תוקפת את עצמה ויש תהליכי תיקון.



השפעת התגובה הדלקתית על הנזק המוחי בשבץ -

הגרפים מראים מודל של שבץ לאחר הזרקה פריפריאלית של LPS (מבנה המאפיין פתוגן) או של IL-1β (גורם לאקטיבציה של תהליכים דלקתיים). ניתן לראות כי לאחר ההזרקה יש נזק איסכמי הרבה יותר גדול בהשוואה לביקורת (veh). מסקנה: הדלקת בשלב הראשון היא מזיקה. יותר אקטיבציה של דלקת -> נזק יותר גדול.



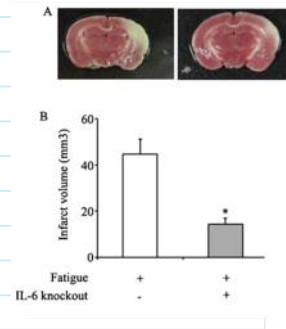
IL-6 הוא ציטוקין חשוב שמופרש בין היתר ע"י מיקרוגליה ומונוציטים. הוא גורם לנורונים ותאים אחרים לעבור אפופטוזיס. גורם לתאי מיקרוגליה ומונוציטים לשחרר רדיקלים חופשיים ומגביר את התגובה הדלקתית, לכן הוא חשוב בהגנה מפני פתוגנים.

בעכבר עם נוקאאוט ל-IL-6:

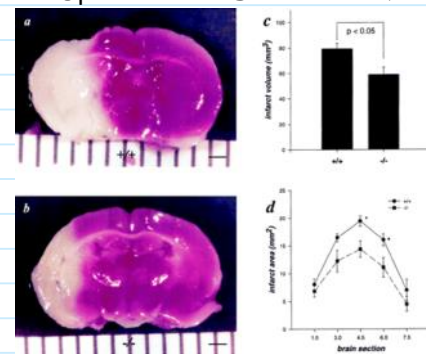
אם מסתכלים על מודל של הדבקה ויראלית - הנזק הויראלי בטווח הארוך יהיה גדול יותר בעכברי נוקאאוט.

אם מסתכלים על מודל של שבץ - בצביעה שעושים לאחר 24 שעות אפשר לראות כי גודל הנזק הרבה יותר קטן בנוקאאוט של IL-6 כי יש

פחות דלקת. כלומר, בשבץ הדלקת מגבירה את הנזק למרות שהדלקת היא לא זו שגרמה לנזק במקור - זו לא מחלה דלקתית אלא מחלה שנובעת מחוסר בחמצן וגלוקוז. הדלקת גורמת לנזק כי היא מקבלת פקטורים כאילו חדר פתוגן זר. מערכת החיסון מנסה לתקוף את התאים שמפרישים את הפקטורים האלה כי היא "חושבת" שתאים אלה הודבקו בפתוגן, אבל למעשה המערכת תוקפת את עצמה.



CD11b - רצפטור הקשור לאקטיביציה של מערכת המשלים. אם פוגעים ב-CD11b, המונוציטים ותאי המיקרוגליה פחות מאוקטבים. הפגיעה אחרי 24 שעות היא יותר קטנה כי יש פחות דלקת. בעכברי מודל של שבץ עם נוקאאוט ל-CD11b הנזק הרבה יותר קטן.

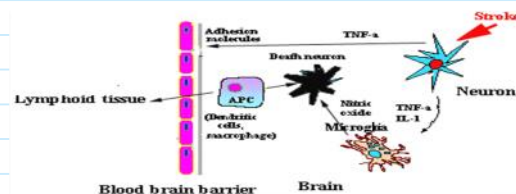


בהמשך יש חדירה מסיבית של **תאי מערכת החיסון הפריפריאלית** - מקרופאגים, מונוציטים, נוטרופילים ועוד. תאים אלה לא נמצאים באזור של המוות הנקרוטי אלא באזור ה-**penumbra** בו יש מוות אפופטוטי. באזור זה תאים יכולים למות או לשרוד. זה האזור שעוד אפשר להציל.

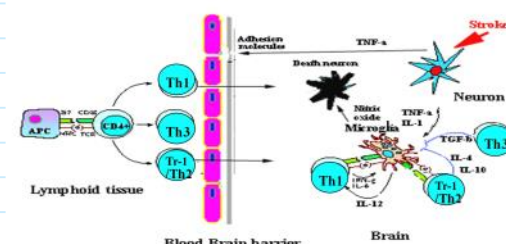
למה התאים מגיבים?

השבץ קורה כתוצאה מחוסר חמצן וגלוקוז במוח - סטרס - תאים מתחילים למות מאוד מהר - התאים שמתים משחררים פקטורים שסטרס לסביבה - אקטיביציה של מיקרוגליה ואסטרואיטים - שחרור רדיקלים חופשיים ופקטורים שמשפיעים על מולקולות אדהזיה. כשהתאים מתים משחררים מהם כל מיני פקטורים שמגיעים דרך המערכת הלימפתית לדם. פקטורים אלה נבלעים ע"י תאים מציגי אנטיגן, שמציגים את האנטיגן בבלוטות הלימפה. בעקבות כך מתחיל תהליך דלקתי ספציפי כנגד העצמי. לכן יש הטוענים כי שבץ יכול להיות גורם סיכון לטרשת נפוצה, כי יש אקטיביציה של תהליכים נגד העצמי. התאים הראשונים שעוברים אקטיביציה הם **תאים פרו אינפלמטוריים** - **Th1** ו-**Th17**. תאים אלה חוזרים למוח בצורה מוגברת בגלל העלייה בביטוי מולקולות אדהזיה. הם יכולים להכיר תאים מציגי אנטיגן כמו מיקרוגליה ומונוציטים. האנטיגנים המוצגים במקרה הזה הם מרכיבים מהתאים שמתו. בעקבות כך התאים הדלקתיים משחררים פקטורים כמו IFN γ ו-IL-17 שגורמים לאפופטוזיס. לאט לאט יש גם אקטיביציה וחדירה של **תאי T רגולטוריים** שהפרוליפרציה שלהם יותר איטית. הם בסופו של דבר יביאו לאיזון. היינו רוצים להגביר את השלב הזה על פני השלב הראשון.

Stroke induces inflammation that can enhance cell death

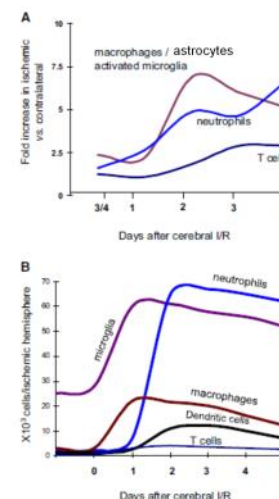
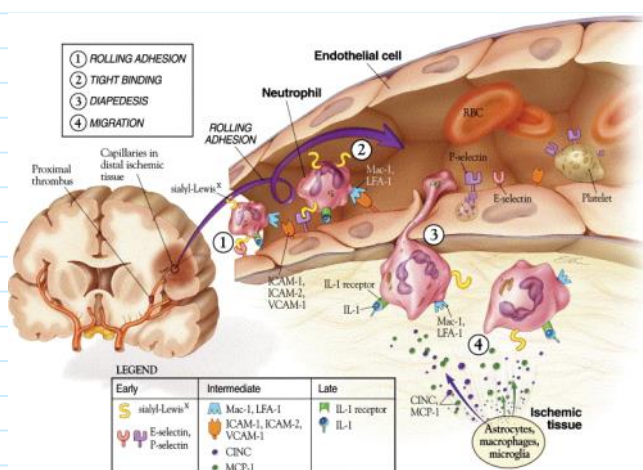


T- cells may have beneficial or harmful effects in stroke

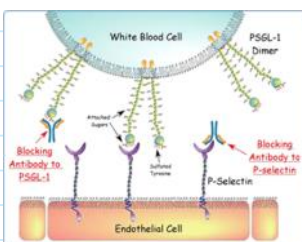
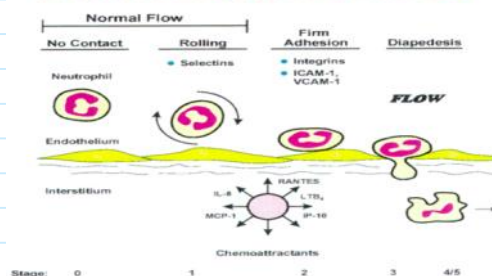
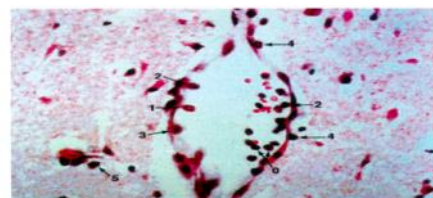


אקטיביציה של תאים שונים במהלך שבץ -

ניתן לראות בגרפים כי תאי המיקרוגליה עוברים אקטיבציה מאוד מהירה. אח"כ יש אקטיבציה וחדירה של נוטרופילים, בעקבותיהם מונוציטים/מקרופאגים ותאים דנדרטיים. בשלב מאוחר יותר חודרים גם תאי T (CD4 ו-CD8). החדירה של תאים דלקתיים מהפריפריה למוח מתרחשת גם כי הם עברו אקטיבציה וגם בגלל העלייה בביטוי מולקולות אדהזיה על גבי כלי הדם (selectin, ICAM-1 ועוד). זה קורה לא באזור בו BBB נפגע והתרחש מוות נקרוטי, אלא באזורים מסביב.



בתמונה רואים את החדירה של תאים מהפריפריה למוח ע"י הכרה של מולקולות אדהזיה:

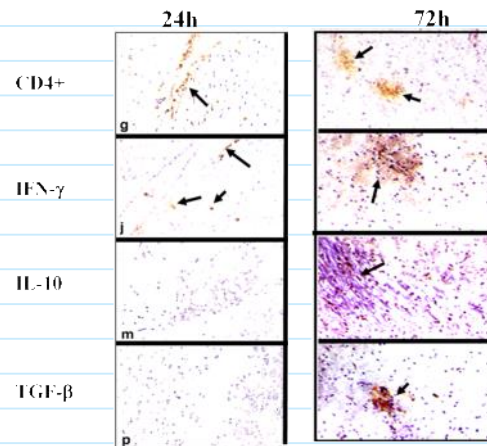


איך היינו רוצים לטפל בנזק שנגרם כתוצאה משבץ? למנוע את הדלקת.

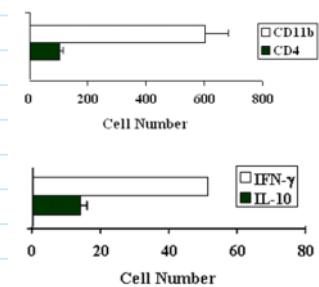
אחד הטיפולים שהציעו הוא חסימה של מולקולות אדהזיה או של רצפטורים על תאי מערכת החיסון הפריפראלית שמאפשרים להם לחדור למוח. אפשר לעשות זאת למשל בעזרת נוגדן נגד P-selectin או ICAM-1. זה עבד בצורה מצוינת במודלים עכבריים והצליח להוריד בצורה משמעותית את הנזק שנגרם למוח. אבל כשניסו את זה באנשים ראו כי זה לא עזר ואף גרם לאפקט מזיק. הסיבה היא שכשבדקו את הטיפול בעכברים בדקו אותו לטווח קצר. אבל בטווח הארוך הטיפול עצר גם כניסה של תאים רגולטוריים שגורמים לתהליכי תיקון.

אימונוהיסטולוגיה של המוח לאחר שבץ:

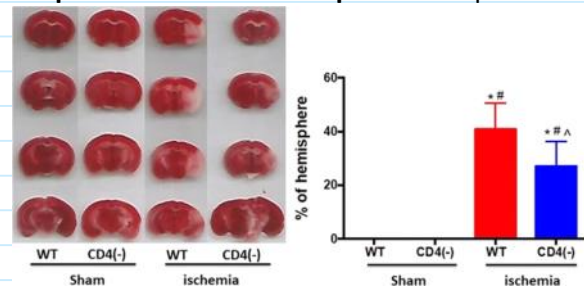
מסתכלים על תאים שחודרים לאזור ה-penumbra, מסביב לאזור הנזק, לאחר 24 שעות ולאחר 72 שעות. כבר לאחר 24 שעות כמות תאי ה-CD4 וה-IFN γ עולה, ואחרי 72 שעות היא עולה עוד יותר. אחרי 72 שעות רואים גם התחלה של עלייה בתאים המייצרים ציטוקינים אנטי אינפלמטוריים: IL-10 ו-TGF- β .



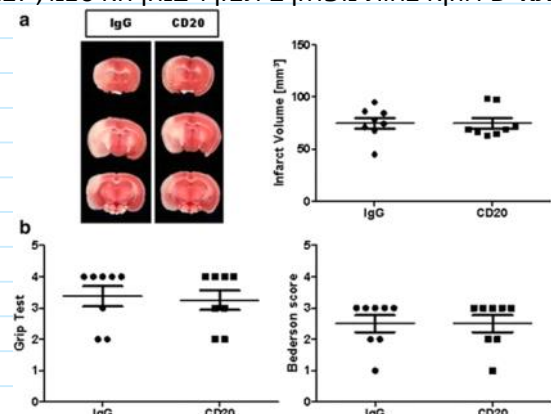
בנוסף, אחרי 72 שעות רואים עליה גדולה מאוד ב-CD11b ו-CD4 T cells. תאי Th1 המפרישים IFN γ הם עדיין המרכזיים, אבל מתחילה להיות גם עלייה בתאים המייצרים IL-10 שהם בעלי אפקט אנטי אפופטוטי.



כאשר מונעים יצירת CD4 T cells ע"י נוקאאוט - אחרי 24 שעות הנזק יותר קטן. זאת מכיוון שבשלב זה לתאי CD4 יש אפקט מזיק. בשלבים מאוחרים יותר זה כבר שונה. אותו דבר קרה גם עם נוקאאוט ל-CD8 או לאינטרפרון גמא - הנזק האיסכמי אחרי 24 שעות היה נמוך יותר.



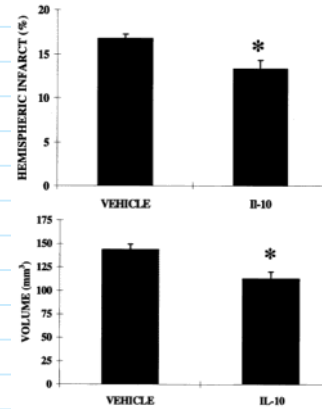
תאי B דווקא פחות משחקים תפקיד בנזק האיסכמי, לפחות אחרי 24 שעות. כנראה הם עוברים אקטיבציה יותר מאוחר.



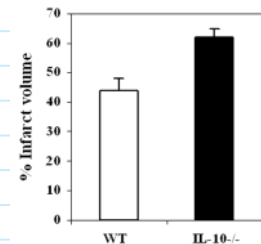
המחקר היום מתייחס לשבץ לא רק בהיבט של אספקת אנרגיה וחמצן אלא גם בהבנת התפקיד של הדלקת. בעזרת מודולציה של הדלקת אולי אפשר להגביר את תהליכי התיקון ולהוריד את האפקט המזיק.

מי יכול לעשות תיקון? תאי T גולטורים שיכולים לעצור את התאים בעלי האפקט המזיק ולשחרר ציטוקינים אנטי דלקתיים כמו IL-10, שמורידים את שחרור הרדיקלים החופשיים ועוצרים מוות אפופטוטי.

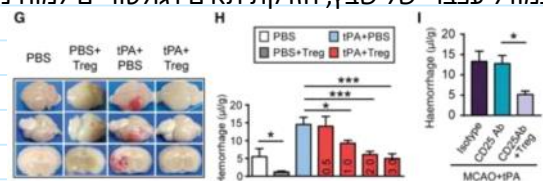
- ראו כי אוכלוסיות של אנשים מבוגרים שיש להם יותר ציטוקינים אנטי דלקתיים בדם פחות מקבלים שבץ.
- כאשר עשו שבץ לחולדות והזריקו להן IL-10, הנזק היה יותר קטן:



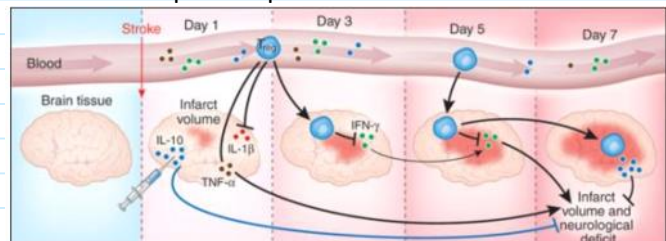
- למה לא מזריקים IL-10 לאנשים עם שבץ?** כי זה ידכא את המערכת החיסונית ואז המערכת תהיה יותר חשופה לפתוגנים. חיות מעבדה שנמצאות במצב סטרילי בו אין חדירת פתוגנים. אצל אנשים שגם ככה היה להם שבץ והייתה פריצה של BBB, יכולה להיות חדירה של פתוגנים למוח ולכן הזרקת IL-10 היא בעייתית.
- בעכברים שחסר להם IL-10 הנזק כתוצאה משבץ יותר גדול מאשר בעכברים רגילים:



- במודל עכברי של שבץ, הזרקת תאים רגולטוריים למוח מורידה את רמת הנזק:

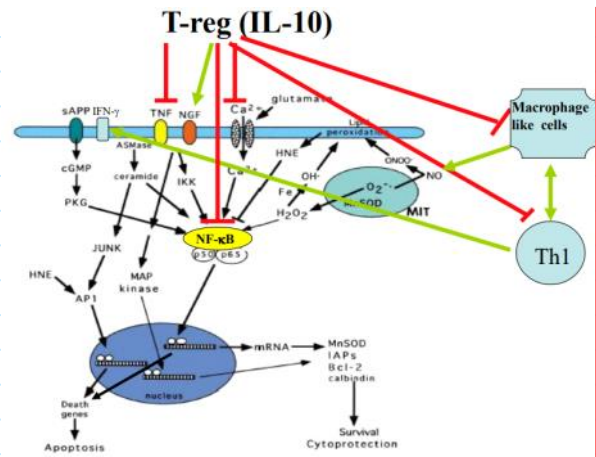


התהליך שמערב תאים רגולטוריים הוא תהליך שיכול לקרות במשך כ-10 ימים-שבועיים. בשלב הזה הדלקת עדיין משחקת תפקיד. המוות הנקרוטי הוא תהליך שקורה מאוד מהר - מספר דקות-שעות. מוות שיכול לבוע כתוצאה מתהליך דלקתי יכול לקחת קרוב לשבועיים. אם נוכל לעשות שינוי מתאים בעלי אפקט של נזק לתאים בעלי אפקט של תיקון, אולי אפשר להציל תאים ממוות אפופטוטי.



התפקיד של IL-10 במניעת מוות נוירונלי:

- IL-10 מקטין אקטיבציה של תאים פרו-דלקתיים כמו Th1.
- IL-10 יכול גם לדכא תאים מציגי אנטיגן שמאקטבים את תאי ה-CD4, כמו מיקרוגליה
- IL-10 יכול להקטין את השחרור של רדיקלים חופשיים
- IL-10 מוריד את האקטיבציה של תעלות קלציום שהן חשובות לחדירת יונים למוח. עודף אקטיבציה של תעלות אלה יכולה לגרום לעודף קלציום בתא ולתהליכי אפופטוזיס.
- IL-10 יכול למנוע תהליכים פרו-דלקתיים הקשורים ל-TNFα
- IL-10 מקטין את האקטיבציה של פקטור תוך תאי בשם **NfκB**, שמשחק תפקיד חשוב באקטיבציה של תהליכים הקשורים לסטרס, דלקת ואפופטוזיס. עיכוב של NFκB יכול להועיל לתהליכי התיקון.

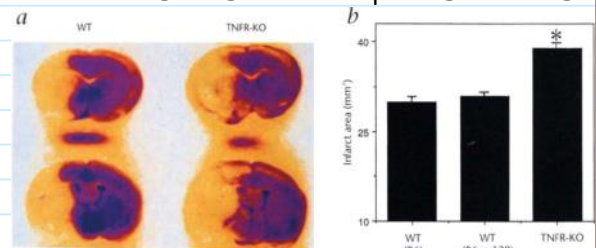


כל אלה מעלים את המחשבה ש-IL-10 יכול להיות טוב כטרגט טיפולי. אבל הבעיה היא שאנחנו לא יכולים לתת IL-10 בצורה רציפה כי זה יכול לגרום לנזק (חדירת פתוגן). אנחנו רוצים לתת אותו בצורה מאוד מקומית לאזור הפגיעה. מנסים להבין אפשר לכוון IL-10 בצורה מקומית.

ניסו להסתכל על כל מיני פקטורים שיכולים לתווך כניסה של תאים דלקתיים למוח ולנצל אותם כמטרה טיפולית. ראינו שעיכוב מולקולות אדהזיה גרם לאפקטים של נזק לטווח ארוך באנשים. פקטור נוסף שחשבו עליו הוא TNFα.

TNFα - בעל אפקטים פרו דלקתיים ומשחק תפקיד בכניסת תאים מהפריפריה למוח ע"י העלאת הביטוי של מולקולות אדהזיה. ראו כי רמת ה-TNFα ב-CSF עולה אצל אנשים עם שבץ. באופן מפתיע, כאשר עשו נוקאאוט לרצפטור של TNFα בעכברים, הנזק היה יותר גבוה. זה חיצק את המחשבה ש-TNFα משחק תפקיד חשוב בעליה של מולקולות אדהזיה שמאפשרת לתאים מהפריפריה לחדור למוח.

באדום/סגול - האזור הבריא
בצהוב - תאים מתים



האם ניתן ללמד את מערכת החיסון לדכא תהליכים דלקתיים מזיקים ולעודד מועילים?

אנחנו כל הזמן מחזירים דברים זרים לגוף (בנשימה, אכילה וכו') אבל מערכת החיסון לא מגיבה נגדם. כלומר יש דיכוי של תהליכים דלקתיים כנגד אותם מרכיבים זרים שנכנסים לגוף. יש כל מיני תהליכים ששומרים על שיווי משקל של מערכת החיסון, כך שתילחם בפתוגנים מזיקים אך לא תגיב נגד דברים זרים שאין להם אפקטים פתוגניים.

אחת המחשבות שעלו היא להשתמש בהרחה/אכילה כדי ללמד את הגוף להגיב בצורה יותר טובה למצבים של סטרס - למשל להקטין את החדירה של Th1 למוח ולהגביר את החדירה של תאים בעלי אפקטים אנטי דלקתיים במצבי סטרס שנגרמו כתוצאה משבץ. כלומר שהשלב השלישי (repair) יקרה יותר מהר. איך אפשר לעשות את זה? לקחת מרכיב של העצמי שמשוחרר במצב של נזק וגורם לתהליך דלקתי, לתת אותו לחיות מודל בצורה של האכלה/הרחה וע"כ ללמד את הגוף לעשות אקטיבציה שונה כנגד העצמי. אם היה פתוגן זר אז היה קל מאוד לדעת באיזה מרכיב להשתמש. אבל בשבץ זה יותר מסובך כי אין פתוגן זר שחודר.

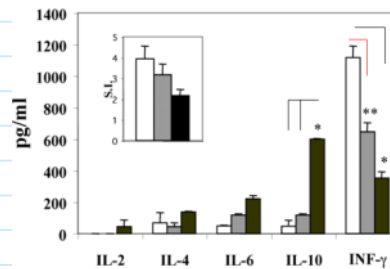
תזכורת: במודל EAE של טרשת נפוצה אנחנו יודעים שמה שגורם למחלה זה הזרקת אנטיגנים של מיאלין. ראינו שמרכיבי המיאלין יכולים לגרום לתהליכים דלקתיים.

האם האנטיגנים של מיאלין משחקים תפקיד גם בשבץ? בשבץ תאים במוח מתים ומשתחררים פקטורים שונים מהתאים המתים. ייתכן שהפקטורים האלה כוללים גם מרכיבים של המיאלין, שגורמים לאקטיבציה של תאים פריפריאליים.

ניסו לתת לעכברים מרכיב של המיאלין (MOG) בהאכלה/בתרסס לאף לפני שמזריקים אותו עם האדג'ובנט, ובדקו האם זה מפחית את התהליכים הדלקתיים שמתרחשים לאחר ההזרקה. בדקו מה הרפרטואר של תאים דלקתיים בטחול לאחר ההזרקה והאם הוא מושפע מהטיפול של האכלה/תרסס. **התוצאות:**

- כשנתנו מרכיב של המיאלין בהאכלה/בתרסס לאף, הייתה ירידה ברמת IFNγ לאחר הזרקת האנטיגן. הירידה הייתה יותר מובהקת כשנתנו תרסס לאף.
- כשנתנו מרכיב של המיאלין בתרסס לאף, הייתה עלייה ברמת ה-IL-10 לאחר הזרקת האנטיגן.

מסקנה: אפשר להשתמש ברעיון של נתינת אנטיגן שיכול להשתחרר במצב של נזק בהאכלה/תרסס לאף, כדי להקטין תהליכים דלקתיים פריפריאליים.



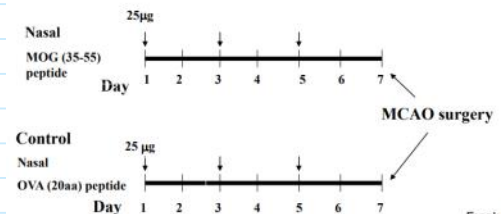
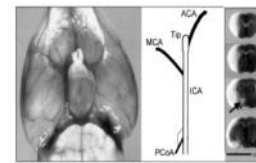
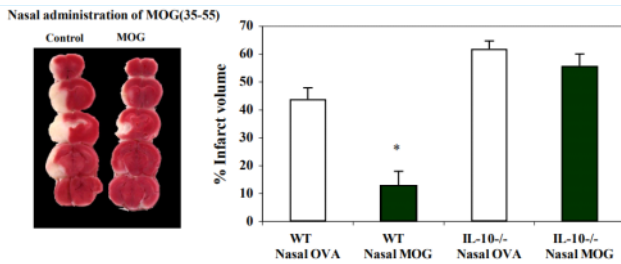
IL-10
* Nasal $p < 0.0001$

INF-γ
* Nasal $p < 0.0008$
** Oral $p < 0.007$

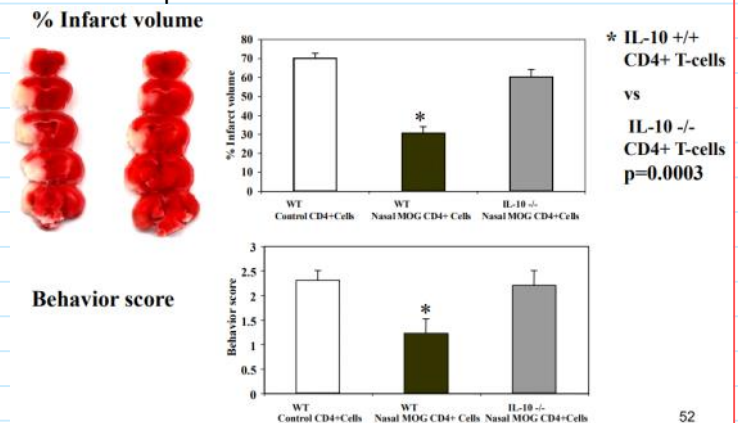
עשו אותו דבר עם עכברי מודל של שבץ: נתנו את חלבון MOG של המיאלין בתרסיס לאף 3 פעמים ואז עשו את הניתוח שגורם לשבץ (הפעם לא הזריקו מרכיבי מיאלין). הביקורת כללה עכברים שקיבלו בתרסיס לאף את החלבון OVA (פפטיד לא ספציפי) במקום MOG. **התוצאות:** הטיפול של מתן MOG בתרסיס לאף הקטין בצורה מובהקת את גודל השבץ. כאשר עשו את הטיפול בחיות שלא מסוגלות לייצר IL-10, לא היה אפקט. זה העלה את המחשבה שהתרסיס קשור ליצירת IL-10.

Stroke model:

Middle Cerebral Artery Occlusion surgery (MCAO)

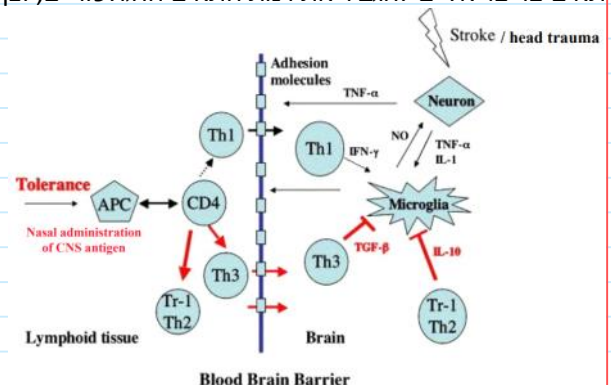


האם ההקטנה של הנזק קשורה בצורה ישירה לתאי T המייצרים IL-10? כדי לבדוק זאת, עשו ניסוי של **Adoptive transfer** - בודדו את ה-CD4 T cells מעכברים שקיבלו ספריי לאף של MOG, גם מעכברים רגילים וגם מעכברים שלא מייצרים IL-10. את התאים האלה העבירו לעכברים אחרים עם שבץ. ראו כי העברה של תאי T שמייצרים IL-10 מעכברים שקיבלו את הספריי לאף הורידה בצורה מובהקת את רמת הנזק. לעומת זאת, העברה של תאי T שלא מסוגלים לייצר IL-10 לא הורידה את הנזק.



*עשו כל מיני מחקרים בסגנון, לא רק עם אנטיגנים של מיאלין אלא גם עם אנטיגנים נוספים.

לסיכום: ייתכן ששטיפול אפשרי למצבים בהם יש דלקת במוח ללא פתוגן זר, ניתן לקחת אנטיגן שיכול להשתחרר במצב של נזק, ללמד תאים פריפריאליים להגביר את רמת התאים הרגולטוריים, וכך לגרום לשלב ה-repair לקרות יותר מהר.



האם אפשר באופן דומה גם לגרום לתאי הגליה לעבור הכוונה על מנת למנוע את שלב הנזק? האם אפשר ללמד את התאים להגיב בצורה מועילה במצבים של סטרס?

Preconditioning - התניה ולימוד של הגוף לעמוד בתנאים שהוא לא רגיל אליהם כמו סטרס, מחסור בחמצן וכו'. לגוף יש יכולת לעבור תהליכים של אדפטציה.

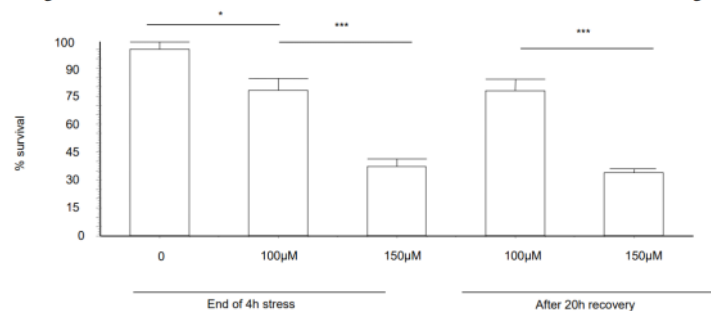
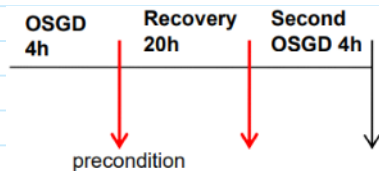
ראו כי בקרב אנשים שהם prone לקבל שבץ, אנשים שהיה להם בעבר Transient brain ischemia (נזקים קטנים במוח שמזכירים שבץ) התמודדו יותר טוב עם השבץ לאחר מכן. כלומר, באותם אזורים במוח בהם היו בעבר נזקים קטנים, כשקרה נזק גדול יותר (שבץ) הפגיעה באזורים אלה הייתה קטנה יותר.

ייתכן שזה קרה בגלל תהליכים של preconditioning, כלומר הגוף יכול ללמד את עצמו להגיב בצורה מתאימה למצבים של סטרס. זה נכון לא רק לגבי שבץ אלא גם לגבי התקפי לב.

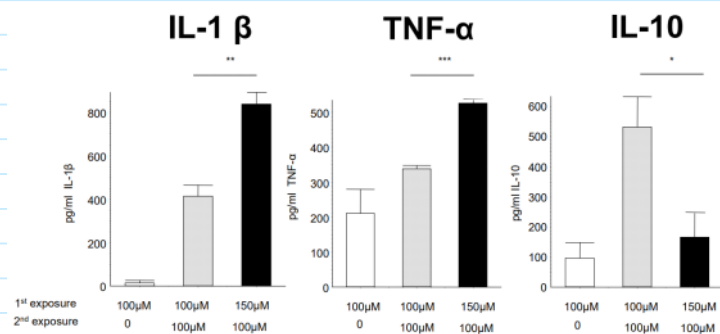
נרצה להבין כיצד אפשר ללמד את הגוף להגיב בצורה מתאימה למצבי סטרס. נשאלת השאלה מיהם התאים שמשחקים תפקיד בתהליך ה-preconditioning.

Preconditioning של אסטרוציטים - אסטרוציטים משחקים תפקיד במטבוליזם של אנרגיה במוח. דוקטורנטית של דן ניסתה ללמד אסטרוציטים להגיב לכל מיני סטרסורים. היא חשפה אסטרוציטים בתרבות לרמה שונה של סטרס. הסטרס נבע מחוסר גלוקוז במדיום + תוספת של רדיקלים חופשיים בריכוזים שונים (OSGD). היא חשפה אותם לסטרס למשך 4 שעות, נתנה להם להתאושש ואז בדקה מה קורה כשחושפים אותם פעם שניה לאותם סטרסורים. ובפעם השנייה היה אפקט של הגנה. לאחר חשיפה לסטרס במשך 4 שעות הייתה תמותה של אסטרוציטים (ככל שריכוז הרדיקלים החופשיים היה יותר גבוה, יותר מתו). בפעם השנייה, לאחר התאוששות וחשיפה נוספת לאותם סטרסורים, היה אפקט של הגנה - פחות תאים מתו. כלומר, תאים שהצליחו להתאושש אחרי סטרס מתו ולא מתו מיד, נהיו יותר עמידים בפני הסטרסור הנוסף.

Astrocyte survival after 4h OSGD and 20 h of recovery

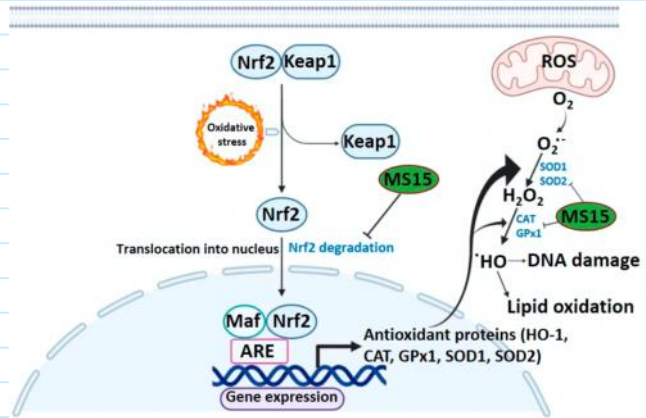


התברר כי אצל אותם תאים שעברו הכוונה והצליחו לא למות, הייתה עלייה סיגניפיקנטית בשחרור IL-10 לעומת התאים שכן מתו, בהם הייתה עלייה בפקטורים פרו דלקתיים. כלומר התאים שלא מתו כתוצאה מהסטרס הראשון נהיו יותר אנטי דלקתיים.

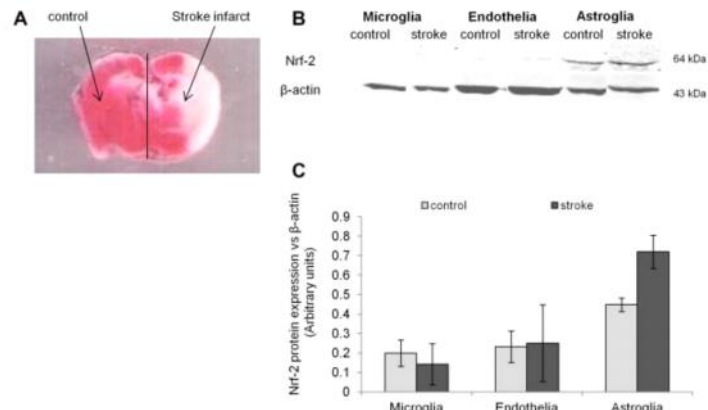


כשמדברים על אזורים במוח שנפגעים כתוצאה משבץ, יש את ה-Core - האזור בו הייתה הפגיעה הראשונית של השבץ, שם התאים מתים מאוד מהר. יש את האזור הקרוב אליו, שמקבל סיגנלים של מוות. ויש אזור טיפה יותר רחוק, שגם שם קורה מוות אפופטוטי אבל הוא מאוד רגיש לסיגנלים סופיים שמתקבלים מהתאים השונים. הלמידה יכולה לגרום לאותו אזור להיות יותר עמיד לסטרסורים אחרים. אנחנו לא יודעים למשך כמה זמן הלמידה הזו נשארת. אנחנו רוצים להבין מה השתנה באותם תאים שעברו תהליך של למידה ואיך אנחנו יכולים לגרום לתהליך הזה לקרות.

ראו כי יש עלייה של פקטורים תוך תאיים בעלי אפקט אנטי אוקסידנטי. הגוף מעלה פקטורים שעוזרים לתא להתמודד עם סטרס. אחד הפקטורים האלה הוא **Nrf2** - פקטור חשוב שמאקטב תהליכים הבוללים כילטורים של רדיקלים חופשיים, וכך מקטין את הסטרס האוקסידטיבי שקורה בתא.

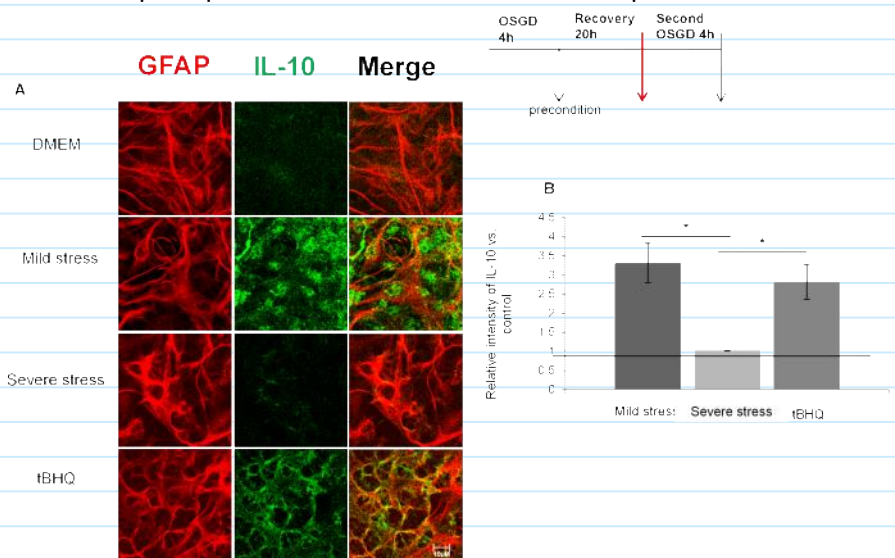


הדוקטורנטית של דן לקחה עכברים עם שבץ, אספה את התאים שהיו מסביב לאזור הנזק והשוותה אותם לחיות בריאות. היא ראתה שבמצב של שבץ יש עליה יותר גדולה באסטרוציטים לעומת תאים אחרים באזור, ויש עליה בביטוי של Nrf2 באסטרוציטים.



מהצביעות ההיסטולוגיות של האסטרוציטים ניתן לראות כי לאחר חשיפה לסטרס מתון יש עלייה בפקטורים אנטי דלקתיים כמו **IL-10**. עלייה זו לא מתרחשת לאחר חשיפה לסטרס חמור שגורם לתמותה של התאים. זה מראה מסלול שבו האסטרוציטים לומדים להגן על עצמם ועל הסביבה שלהם.

חומרים שונים (כמו tBHQ או השתמשו בניסוי זה) יכולים לגרום לעלייה ב-Nrf2 ולהגביר את העלייה של IL-10 באותם אסטרוציטים בצורה ישירה גם ללא סטרס. בחלק מהחומרים אלה התחילו להשתמש בניסיון לבדיקה של טיפולים לטרשת נפוצה.

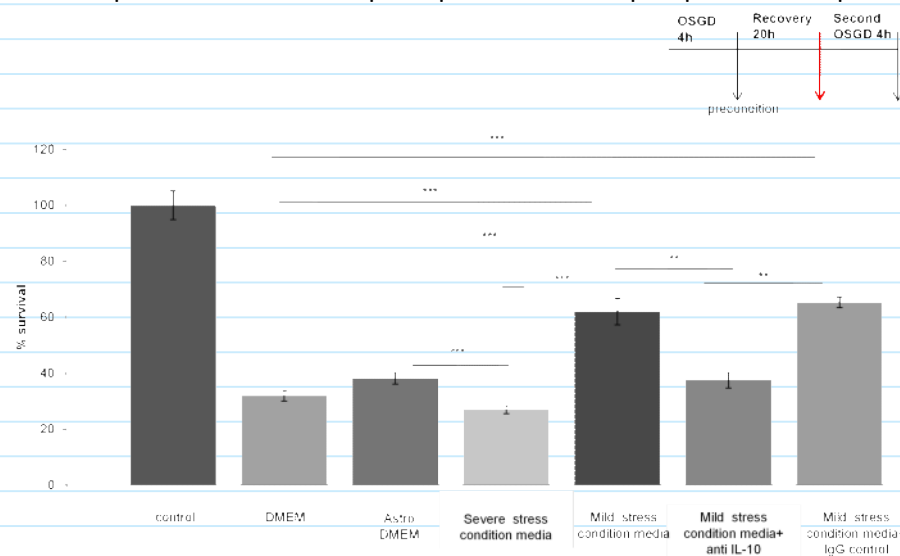


בניסוי נוסף, גרמו לאסטרוציטים לעבור תהליך preconditioning - סטרס מסיבי - נתנו להם להתאושש. לקחו את supernatant (הנוזל העליון) של התאים בתרבות, ובנוזל זה הדגירו ניורונים שעברו סטרס (הרעבה של מחסור בגלוקוז + עלייה ברדיקלים חופשיים).

- כאשר גרמו לסטרס לניורונים - רובם מתו.
- כאשר נתנו להם להתאושש במדיום של אסטרוציטים רגילים (שלא עברו אקטוב) - עדיין מתו.
- כאשר נתנו להם להתאושש במדיום של אסטרוציטים שעברו אקטוב חזק שגרם לתמותה שלהם - עדיין מתו.
- כאשר נתנו להם להתאושש במדיום של אסטרוציטים שעברו אקטוב שגרם לעלייה ב-IL-10 (תהליך preconditioning) - הרבה פחות ניורונים מתו. כלומר היה אפקט של הגנה.
- כאשר הוסיפו למדיום הזה גם נוגדן המבטל את האפקט של IL-10 - האפקט של ההגנה הוסר, יותר ניורונים מתו מאשר בלי הנוגדן. זה מראה שהאפקט של ההגנה מתווך בעיקרו ע"י IL-10 (אבל לא רק).
- כאשר הוסיפו נוגדן שלא מבטל את IL-10 (כביקורת) - האפקט של ההגנה לא הוסר.

מסקנות:

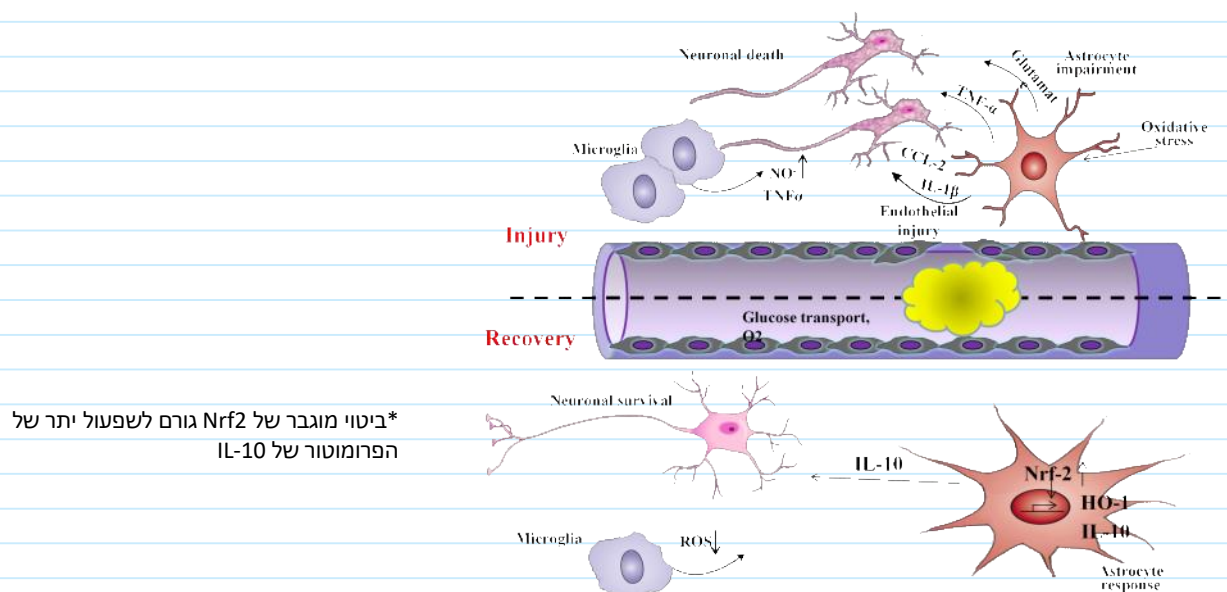
- יש תהליך למידה שיכול לקרות ברמת המוח (במקרה הזה ברמת האסטרואיטים). תהליך הלמידה הזה יכול לשחק תפקיד חשוב בהגנה גם על תאי גליה וגם על תאי עצב.
- האפקט הזה קשור לפקטורים כמו IL-10 שיכול להגיע גם מאסטרואיטים שנמצאים במוח וגם מתאים פריפריאליים שנכנסים.
- תהליך זה יכול לשחק תפקיד בהרגעת התהליך הדלקתי שנגרם כתוצאה משבץ.



לסיכום:

שבץ גורם לאקטיבציה של תאים דלקתיים שגורמת למוות אפופטוטי מסביב לאזור הפגיעה. תהליכים בהם יש עלייה ברמת ה-Nrf2 גורמים לעלייה בשחרור IL-10 <- הצלה של נוירונים שמתחילים לעבור אפופטוזיס + הקטנה של תהליכים סטרסוריים בהם תאי מיקרוגליה משחררים רדיקלים חופשיים.

כאשר אנחנו לוקחים את המודל הויראלי ומנסים להלביש אותו על מחלות כיווניות של המוח, זה יכול לתת לנו כלים להבנה של השלבים שמתרחשים במחלות אלה, ולעזור לנו לחשוב על תהליכים טיפוליים למחלות אלה.



* ביטוי מוגבר של Nrf2 גורם לשפעול יתר של הפרומוטור של IL-10

בוחן: איך יראה הנזק במוח אחרי 72 שעות במודל של שבץ בעכברים עם חוסר ב-Th1 בהשוואה למחלה בעכברים ללא שינוי גנטי?

1. גדול יותר
2. קטן יותר
3. ללא שינוי

תשובה: 2

* אם היה שואל אותו דבר אבל על עכברים עם חוסר ב-Treg אחרי שבועיים, התשובה הייתה 1 (נזק גדול יותר).

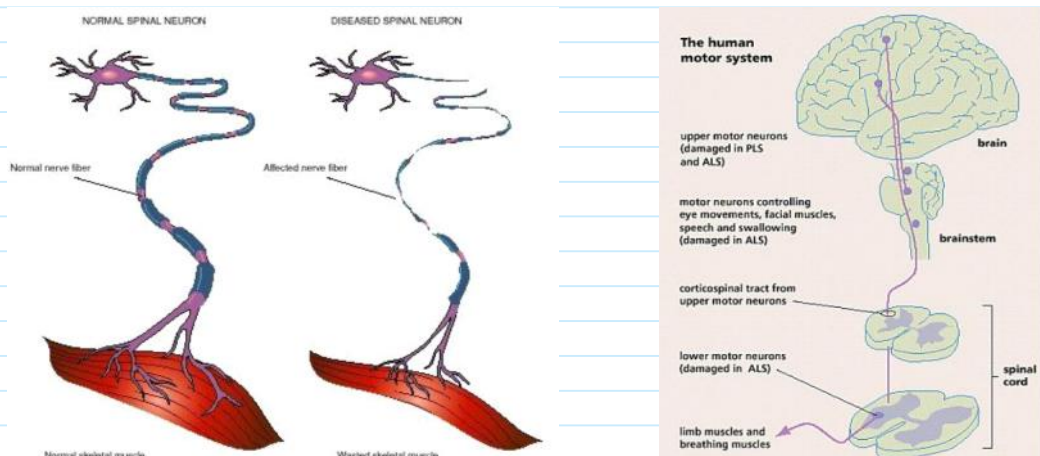
Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS)

- מחלה נוירודגנרטיבית שפוגעת ב-upper motor neurons - תאי עצב שיוצאים מהמוח, וב-lower motor neurons - תאי עצב שיוצאים מהמוח/מחוט השדרה לפרפריה. המחלה מובילה לאובדן עצבוב השרירים ובעקבות כך לניוון שרירים. השרירים שמתנוונים יכולים להיות שרירים הקשורים בבליעה, בנשימה, בפעילות הלב, וגם שרירי שלד. לכן חולים במחלה יכולים להיות משותקים או מחוברים למכונות הנשמה/האכלה.
- אנחנו לא יודעים מה הסיבה למחלה. יש למחלה מרכיב גנטי אבל הוא יחסית קטן (5-10%).
- אין כיום טיפול שיכול לעצור את המחלה - בסופו של דבר היא תגיע למצב סופני. יש תרופות שיכולות להאט את קצב ההידרדרות, ואנשים שונים מגיבים לתרופות בצורה שונה.
- מחקרים מראים שדלקת יכולה לשחק תפקיד חשוב במחלה.
- נהוג היום לקרוא למחלה **Motor neuron disease (MND)** - שם יותר רחב.
- המחלה התגלתה ע"י החוקר Jean-Marie Charcot.
- בצרפת קוראים למחלה Maladie de Charcot על שם החוקר שגילה אותה, בארה"ב קוראים לה Lou Gehrig's Disease ע"ש לו גריג - שחקן בייסבול מפורסם שחלה בה. ראו כי לאחר שהוא חלה במחלה הייתה ירידה דרמטית בהישגים שלו ובסופו של דבר זה גרם לו לפרוש מבייסבול.
- אחד הדברים שמאפיינים את המחלה הוא ששרירים מסוימים לא נפגעים, כמו שרירי העיניים. תנועות עיניים מאפשרות תקשורת עם הסביבה.
- אדם מפורסם נוסף שחלה במחלה הוא סטיבן הוקינג, שסבל מהמחלה במשך 55 שנים ותקשר עם הסביבה בעזרת חיבור למחשב.

אפידמיולוגיה -

- שכיחות ALS דומה בכל העולם ללא הבדלים בין קבוצות אתניות או מעמד סוציאקונומי, אך נפוצה יותר בגברים.
- שכיחות המחלה היא 1-2:100,000 לשנה. בישראל חיים כ-600-700 חולי ALS.
- גיל הופעת המחלה הממוצע הינו 45-65, כאשר 80% מקבלים את המחלה בגילאי 40-70.
- משך המחלה הוא לרוב 1-5 שנים לאחר האבחון, כאשר 20% חיים 5-10 שנים, ו-10% חיים מעל 10 שנים.

המחלה לא קורית באותה צורה אצל כולם. הפגיעות מתחילות להופיע באזורים שונים בחוט השדרה והמוח (שונה בין אנשים שונים) ואז מתפשטות לאזורים שונים. המחלה פוגעת בכל המסלולים של motor neurons (למעט מסלולים הקשורים לראייה), גם ברמת ה-motor neuron cortex, גם בחוט השדרה וגם בתאים פרפריאליים. המחלה מורידה את היכולת של תאי עצב הפרפריאליים לעצבב את השרירים וכתוצאה מכך השרירים מתחילים להתנוון ולמות. יש טיפולים שמטרתם לעזור לבניית השריר ולהקטין את הנזק. אבל אין לנו ידע למה המחלה פרצה ולמה תאי עצב התחילו למות בצורה נרחבת.

**טיפולים:**

- **Creatine Monohydrate** - חומר שמופרש גם בצורה טבעית בגוף ומספק אנרגיה לשרירים. מחזק את השריר ומונע את הפגיעה בו.
 - **Riluzole** - מקטין אקטיבציית יתר של תעלות קלציום (?) שעלולה לגרום לאפופטוזיס.
 - **Radicava / edaravone** - תרופה אנטיאוקסידנטית שעוזרת להקטין אפקט של סטרס לנוירונים.
- אף אחד מהטיפולים האלה לא מונע את המוות של תאי עצב.

סוגים של ALS:

- **"Sporadic ALS" (SALS)** - הצורה הנפוצה של המחלה, הקיימת ב-90-95% מהמקרים בהם אין מרכיב גנטי ידוע.
- **"Familial ALS" (FALS)** - מתרחשת ב-5-10% ממקרי המחלה. במקרים אלו ידוע מרכיב גנטי.

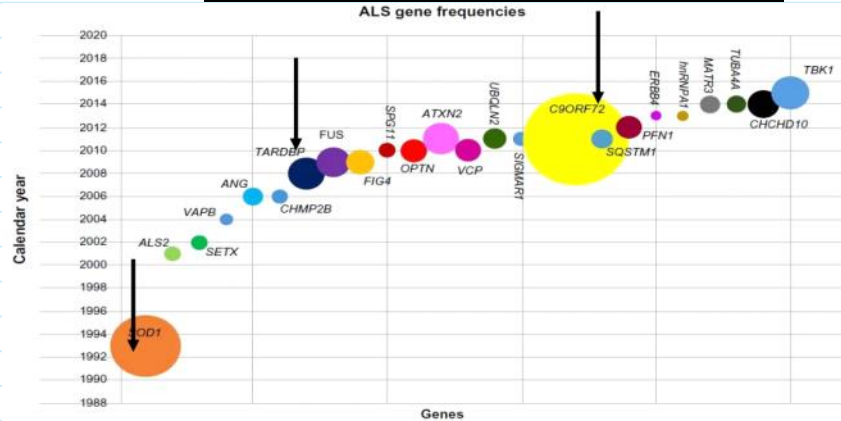
גנים הקשורים ל-familial ALS:

בתרשים רואים גנים שונים שגילו שקשורים למחלה, העיגול של כל גן מופיע בשנה שבה גילו אותו. ככל שעיגול יותר גדול, הגן משחק תפקיד משמעותי יותר במחלה.

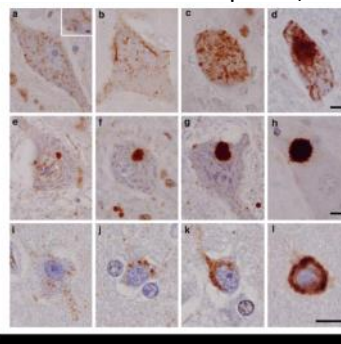
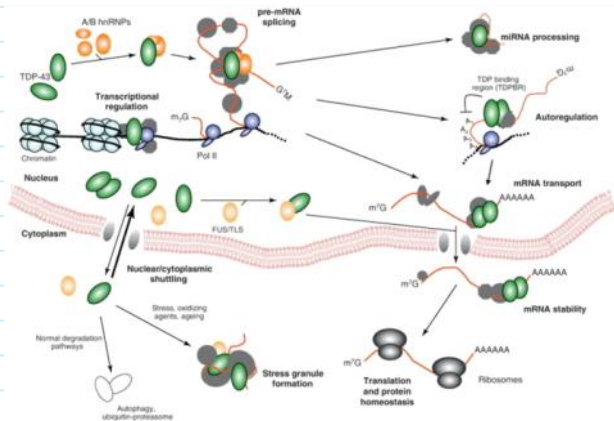
• **C9ORF72** - פגיעה בגן זה נצפתה ב-37.6% ממקרי ה-FALS ו-6.3% ממקרי ה-SALS.

• **superoxide dismutase 1 (SOD1)** - בעל חשיבות גדולה לפעילות המיטוכונדריה וקליטת רדיקלים חופשיים שמקטינה את הסטרס לתאים. זהו הגן הראשון שגילו שפגיעה בו גורמת ל-FALS. מוטציות בגן זה אחראיות ל-20%-12% ממקרי ה-FALS ו-2%-1% ממקרי ה-SALS.

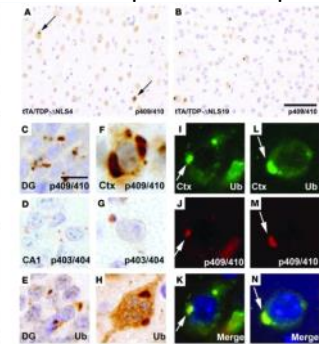
• **TAR DNA-binding protein (TARDBP) 43 (TDP-43)** - אחראי ל-5%-4% ממקרי ה-FALS וכ-1% ממקרי ה-SALS.



TDP-43 - חלבון קושר RNA/DNA. חשוב לפעילות התקינה בכל תאי המוח. יש לו תפקידים שונים הקשורים ליציבות של ה-RNA, תרגום RNA לחלבון, הובלת פקטורים מגוף התא לאזור הסינפסה. עכברים עם נוקאאוט של TDP-43 לא חיים. ירידה בביטוי של TDP-43 גורמת למצב פתולוגי. כלומר, המוטציה ב-TDP-43 שגורמת למחלה היא **loss of function** - אי תפקוד תקין של החלבון. כ-97% מהחולים במחלה, הן במופע הגנטי והן הספורדי, מראים הצטברות של TDP43 בעמוד השדרה והקורטקס המוטורי. מכאן שחלבון זה מהווה סמן חשוב של המחלה, לא רק בחולים הנושאים מוטציות ב-TARDBP.

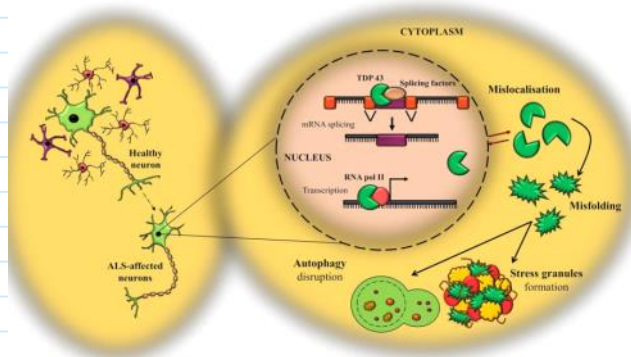


Maturation process of TDP-43-immunoreactive in ALS patients



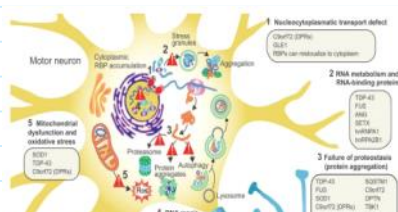
TDP-43 aggregates in cortex and hippocampus of TAT/TDP-ANLS mice.

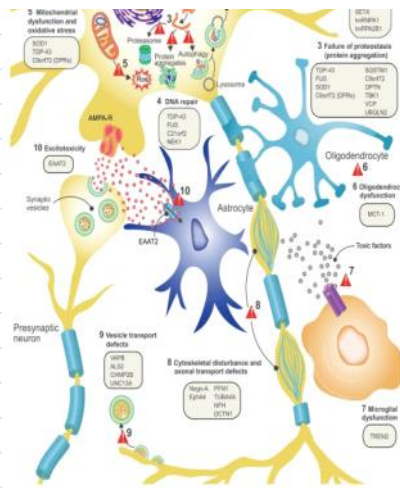
החלבון TDP-43 פועל בעיקר בגרעין, וכשהוא מתחיל לשקוע בציטופלסמה הוא גורם לשרשרת אירועים פתולוגיים:



גורמים אפשריים ל-ALS:

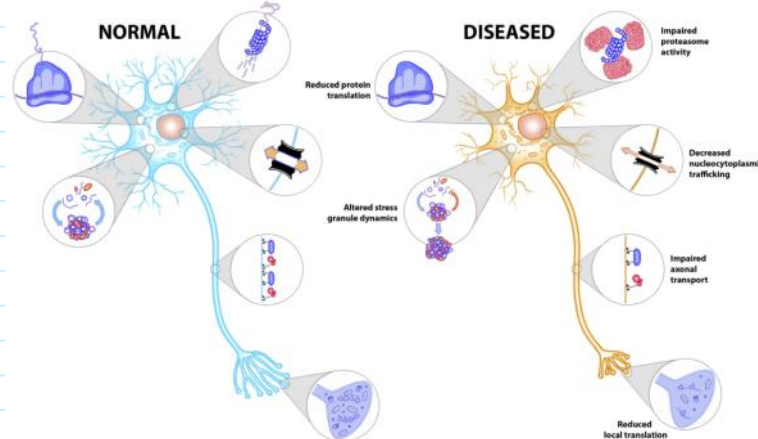
1. שינויים בטרנספורט של RNA וחלבונים קושרי RNA
2. שינויים במטבוליזם של RNA
3. שינויים בתפקוד התקין של חלבונים שונים בתא כמו פרוטאזות, אגרגציה של חלבונים שונים.
4. פגיעה בתהליכי תיקון DNA
5. בעיות בתפקוד המיטוכונדריה, סטרס אוקסידיטיבי





שונים.

4. פגיעה בתהליכי תיקון DNA
5. בעיות בתפקוד המיטוכונדריה, סטרס אוקסידטיבי
6. פגיעה בתפקוד התקין של אוליגודנדרוציטים - פחות תמיכה לניורונים מוטוריים
7. Neuroinflammation - שינויים הקשורים באקטיבציה של תאי גליה המובילים לדלקת
8. Excitotoxicity - אובדן של EAAT2 - הטרנספורטר שמכניס גלוטמט לאסטרואציטים -> הצטברות של גלוטמט מחוץ לתאים -> עודף קישור של גלוטמט לרצפטורים שלו בניורונים -> עודף כניסה של יוני סידן לניורונים.
9. גורמים נוספים שניתן לראות בתמונה:



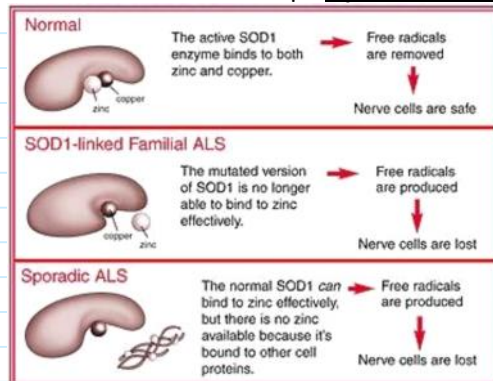
התופעות האלה יכולות להתרחש לא רק ב-ALS אלא גם במחלות אחרות.

SOD1 (superoxide dismutase 1) - חלבון חשוב לפעילות המיטוכונדריה. מהווה כילטור של מרכיבים אוקסידטיביים בתא - יכול לקשור רדיקלים חופשיים וכך להקטין את רמת הסטרס בתא. הסטרס יכול להיגרם כתוצאה מסיבות שונות כמו חלבונים ששוקעים בתא או סיגנלים חיצוניים שהתא מקבל. סטרס אוקסידטיבי יכול לקרות גם כתוצאה מפעילות רגילה של התאים. SOD1 עוזר לתא להתגונן מפני מצבים של סטרס. היכולת שלו לקשור רדיקלים חופשיים קשורה ליכולת שלו לקשור **אבץ** - אבץ הוא יון חיובי והוא מאפשר ל-SOD1 לקשור רדיקלים חופשיים (בעלי מטען שלילי) בצורה יותר יעילה ולסלק אותם מהמערכת.

במצב רגיל: SOD1 קושר אבץ ומסלק רדיקלים חופשיים, וכך מגן על התא מסטרס.

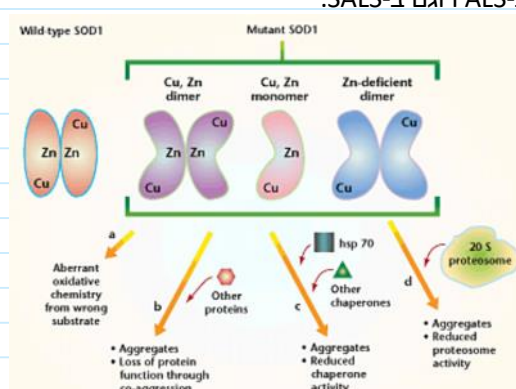
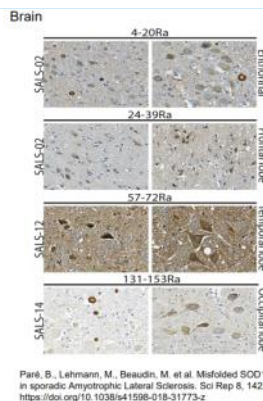
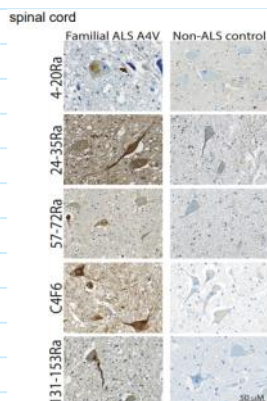
כשיש מוטציה ב-SOD1 הגורמת ל-familial ALS: נפגעת היכולת שלו לקשור אבץ ולכן נפגעת היכולת שלו לסלק רדיקלים חופשיים.

ב-sporadic ALS: אין מוטציה ב-SOD1. SOD1 יכול לקשור אבץ בצורה תקינה, אבל אין אבץ זמין שייקשר אליו.



במצב תקין SOD1 קיים בתא כדימיר אליו קשורים יוני אבץ ונחושת. מוטציה ב-SOD1 גורמת לו להתקפל בצורה שגויה כך שהדימר לא נוצר כראוי או שהוא לא יכול לקשור אבץ בצורה יעילה.

בגלל הפעילות הלא תקינה שלו הוא גם מתחיל להתבטא בכמות יותר גדולה ולשקוע בתאי העצב. אפשר לראות משקעים של SOD1 גם ב-FALS וגם ב-SALS.



מדוע אגרגטים של SOD1 הם רעילים לתא?

1. האגרגטים יכולים לפגוע בפעילות הפרוטאזום -> פגיעה בפירוק של חלבונים שונים, ביניהם ה-SOD1 המוטנטי.
2. האגרגטים של SOD1 מקבעים בתוכם חלבונים אחרים שחשובים לתא (למשל, HSP70), כך שנפגע תפקודם התקין.
3. היווצרות אגרגטים של SOD1 יכולה להיות קשורה לפגיעה בפעילות המיטוכונדריה ואפופטוזיס.

האם המוטציה ב-SOD1 שגורמת ל-familial ALS היא loss of function או Gain of function?

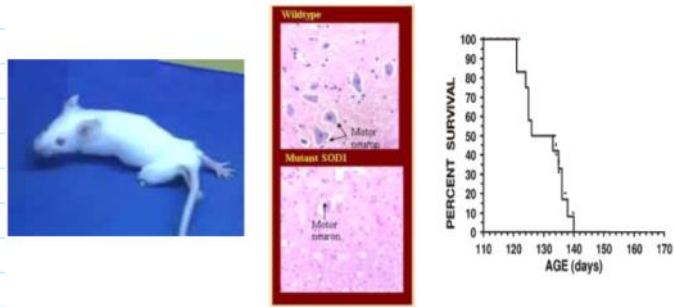
מוטציה ב-SOD1 בעכברים גורמת לירידה משמעותית בשרידות ולפגיעות מוטוריות.

לעומת זאת, נוקאאוט של SOD1 לא פגע בשרידות העכברים ולא גרם להתפתחות מחלה.

מסקנה: המוטציה ב-SOD1 שגורמת למחלה היא **Gain of function**.

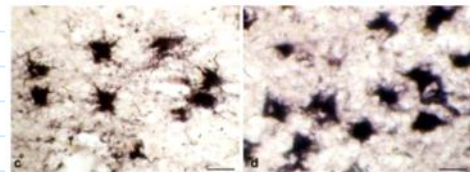
אם SOD1 חשוב לתא, למה שאובדן ה-SOD1 לא יגרם לפגיעה? אולי יש תהליכים שיכולים לפצות על חוסר הפעילות שלו.

מודל עכברי למוטציה ב-SOD1: ביטאו SOD1 בכל תאי הגוף. כ-110 ימים לאחר הלידה, באותם עכברים הופיעו פגיעות מוטוריות רב מערכתיות ובסופו של דבר ביום ה-140 הם מתו מהמחלה. עכברים אלה משמשים כמודל ל-ALS בהקשרים של פגיעה ב-SOD1.

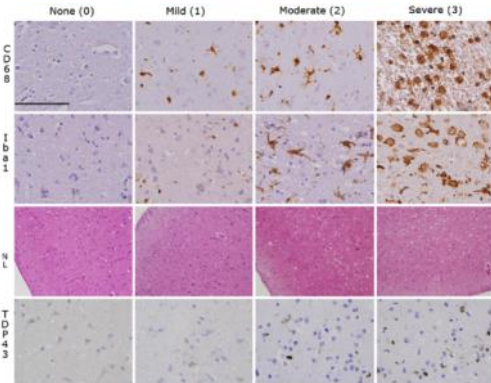


המודל הויראלי בהקשר של ALS:

1. **אקטיבציה של אסטרוציטים ומיקרוגליה** - בתמונה רואים אקטיבציה של **אסטרוציטים** באזור הפגיעה במוח של חולי ALS. כאשר יש פגיעה בתאים, משתחררים פקטורים סטרסוריים מסיסים שמפעילים את תאי הגליה כאילו חדר פתוגן זר. בנוסף, רואים בחולי ALS עלייה בביטוי של **TLRs** - רצפטורים שבדרך"כ מאוקטים כשחודר פתוגן זר, אבל כנראה יש גם משהו בעצמי שיכול לאקטב אותם.

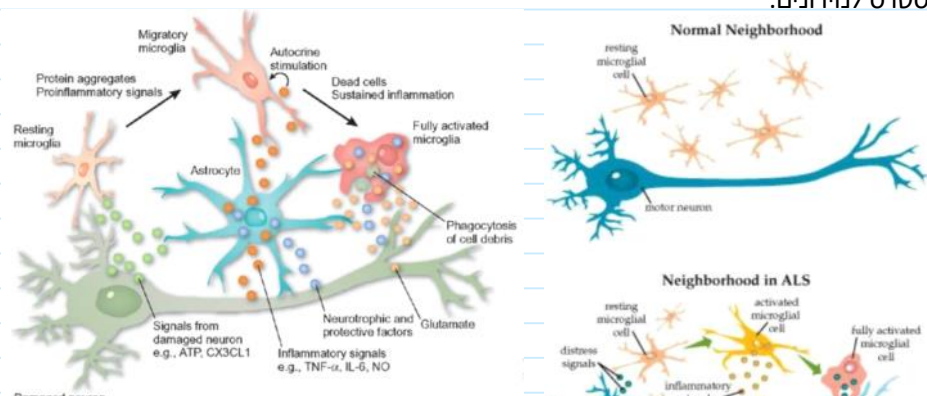


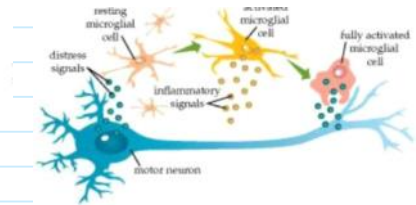
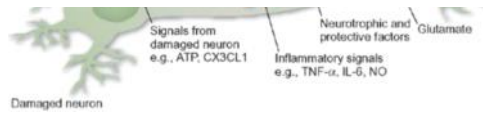
ככל שהמחלה יותר חמורה ותאי העצב יותר בסטרס, יש אקטוב מוגבר יותר של **מיקרוגליה**:



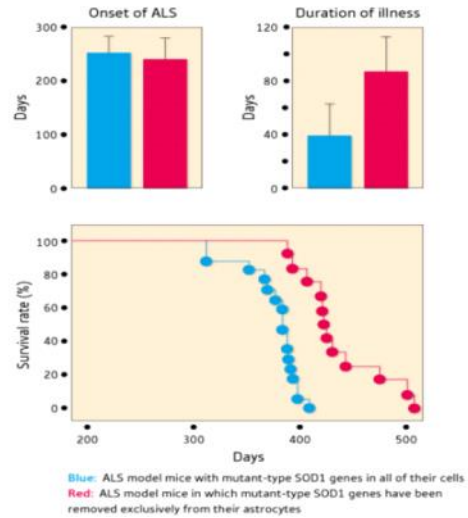
-> האקטיבציה של תאי המיקרוגליה קשורה להופעת משקעים של TDP-43

אנחנו חושבים שב-ALS מתערער הקשר בין תאי העצב לתאי הגליה, והסיגנלים האינפלמטוריים שמשתחררים מתאי העצב גורמים לסביבה שלהם להגיב כאילו חדר פתוגן זר למוח. זה גורם לתאים בסביבה לתקוף את התאים ששחררו את הסיגנל לסטרס. כמו כן, נפגעת היכולת של האסטרוציטים לקשור גלומט. האסטרוציטים משחררים פקטורים פרו-דלקתיים כמו IL-6, מה שמוביל לסטרס לניורונים.

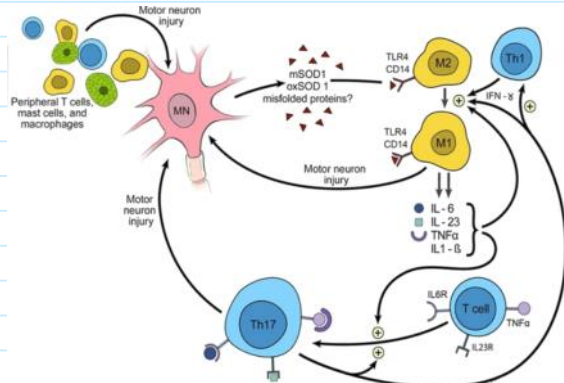




ההבדל בין ALS לבין מה שראינו במצב של חבלה מוחית או שבץ הוא שבמקרה של ALS אין פגיעה ספציפית שגורמת לאקטיבציה של אסטרוציטים ומיקרוגליה. כאן האקטיבציה הזו היא כרונית, מתרחשת כל הזמן, ולכן התהליך הדלקתי קורה לאורך כל המחלה. במחקר לקחו עכברים טרנסגניים עם מוטציה ב-SOD1. בחלק מהעכברים ביטאו את המוטציה ב-SOD1 **בכל התאים**, ובחלק מהעכברים ביטאו את המוטציה **בכל התאים מלבד האסטרוציטים**. כשה-SOD1 המוטנטי התבטא בכל התאים מלבד האסטרוציטים, השרידות של העכברים הייתה גבוהה יותר. זה מראה את התפקיד של האסטרוציטים במחלה.

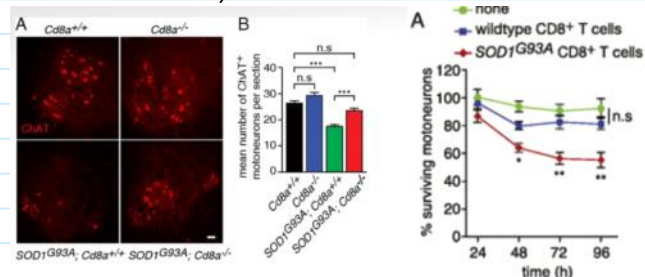


2. **חדירת תאים ממערכת החיסון הפריפריאלית** - בחולי ALS יש עלייה ברמת התאים הפרו דלקתיים שמשחררים IL-17, גם בסרום וגם בחוט השדרה. במודלים של חיות עם מוטציה ב-SOD1 ראו כי יש חדירה של תאי T פרו דלקתיים ושל מקרופאגים/מונוציטים לחוט השדרה ולמוח. התאים האלה מגיבים כאילו חדר פתוגן שצריך להילחם בו.



הערה חשובה: באנשים חולי ALS לא רואים חדירה מסיבית של תאי T למוח (**ייתכן שלא רואים את החדירה כי אנחנו לרוב מסתכלים על החולים בשלבים מאוחרים של המחלה ואולי בשלבים מוקדמים כן היינו רואים זאת). במודלים עכבריים של מוטציה ב-SOD1 אפשר לראות חדירה מוגברת של תאי T למוח, אבל לא חדירה מסיבית כמו שרואים בטרשת נפוצה.

כאשר הורידו את רמת תאי ה-T מסוג CD8, ראו שיפור בשרידות של חיות מודל ל-ALS, בהשוואה לחיות עם CD8 תקין.



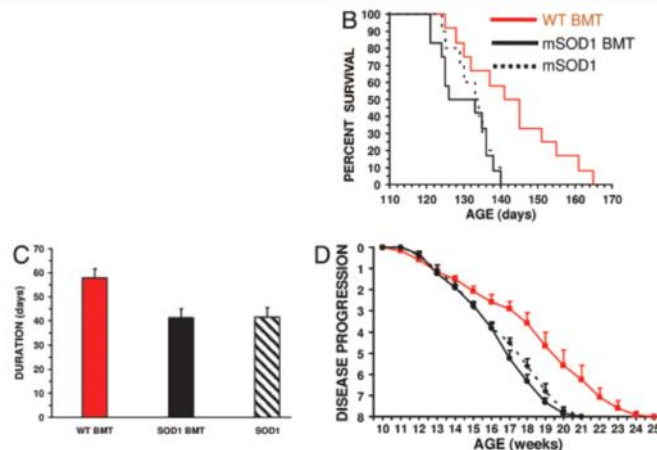
כלומר, על אף שהמחלה היא במערכת העצבים המרכזית, יש מעורבות של תאים פריפריאליים.

כנגד מה התאים עוברים אקטיבציה? אנטיגנים שונים יכולים להשתחרר מהתאים המתים, להגיע לפריפריה ולגרום לאקטיבציה של תאים דלקתיים פריפריאליים.

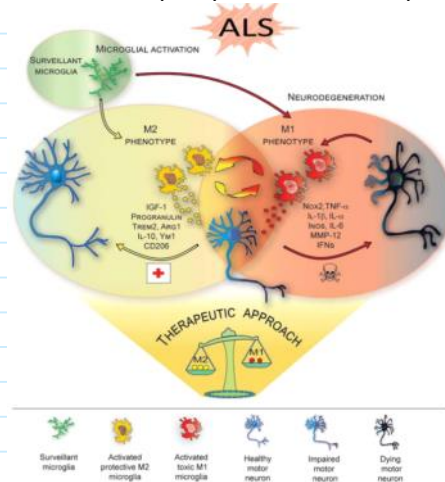
בניסוי לקחו עכברים שלא יכולים לייצר תאי T והכליאו אותם עם עכברים עם מוטציה ב-SOD1. לעכברים שנולדו מההכלאה הזריקו תאי T מחיות WT (באדום) או מחיות שמבטאות SOD1 מוטנטי (בשחור). בעכברים שקיבלו תאי T מעכברים מוטנטיים ב-SOD1 הייתה יותר תמותה לעומת עכברים שקיבלו תאי T מעכברים רגילים, שאצלם הייתה הגנה מסוימת.

מסקנה: לביטוי של SOD1 מוטנטי בתאי T יש אפקט מזיק. כנראה המוטציה ב-SOD1 פוגעת בתפקוד התקין של תאי ה-T. אבל בחיות נורמליות, אולי למערכת החיסון הפריפיראלית יש פוטנציאל לגרום לאפקט חיובי של הגנה.

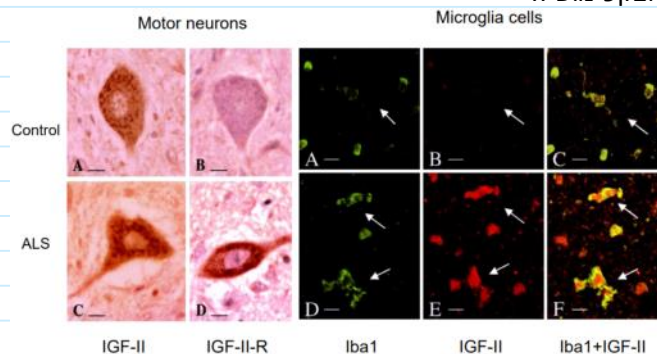
BMT = bone marrow transplant



3. **תהליכי תיקון** - תאי מיקרוגליה יכולים לשחרר פקטורים שונים, חלקם מועילים וחלקם מזיקים. בעבר נהגו לחלק את תאי המיקרוגליה לשתי מחלקות אך היום נזהרים יותר עם החלוקה כי קשה למצוא מרקר ספציפי שמבדיל בין הסוגים.



במוחות של עכברי מודל ל-ALS ראו עלייה ב-**Insulin-like growth factor (IGF)** - פקטור שמשוחרר ע"י תאי מיקרוגליה ומפעיל מנגנוני הגנה והישרדות בניורונים. כלומר, יש רפרטואר של תאי מיקרוגליה המעורבים במחלה, חלקם בעלי אפקט מזיק וחלקם בעלי אפקט מועיל.



הסתכלו על סוגים שונים של **פקטורים ניוטרופיים** - פקטורים שעוזרים לתא לתפקד בצורה תקינה, להתמודד יותר טוב עם מצבים של סטרס אוקסידיטיבי ולהעלות ביטוי של פקטורים אנטי אפופטוטיים. אם לוקחים עכברים מוטנטיים ב-SOD1 ומזריקים להם את הפקטורים האלה, אפשר לראות עלייה בשרידות שלהם. זה העלה מחשבות בנוגע לפוטנציאל טיפולי אפשרי למחלה.
*יש חוקר בפקולטה לרפואה שמנסה להשתמש בתאי גזע שיש להם יכולת לשחרר פקטורים אנטי דלקתיים כטיפול למחלה.

אם לתאי המיקרוגליה באמת יש אפקט מועיל, **למה לא רואים repair ב-ALS?** הבינו כי הגנים השונים הקשורים שיכולים להיפגע במחלה לא מתבטאים רק בתאי עצב אלא גם בתאי גליה. אנחנו יודעים שתאי עצב לא יכולים לתפקד כראוי בלי תאי הגליה. כלומר, בניגוד למצב כמו חדירת פתוגן שפוגע ספציפית בתאי עצב, ב-ALS יש פגיעה שהיא לא ספציפית רק לתאי עצב אלא מתרחשת גם בתאים אחרים. מבדילים בין שני מצבים:

Cell autonomous - כאשר הפגיעה ספציפית לסוג תא מסוים, למשל רק בתאי עצב.

non-Cell autonomous - תהליך שהוא לא ספציפי רק לסוג תא מסוים אלא יכול לקרות בכמה סוגי תאים במקביל.

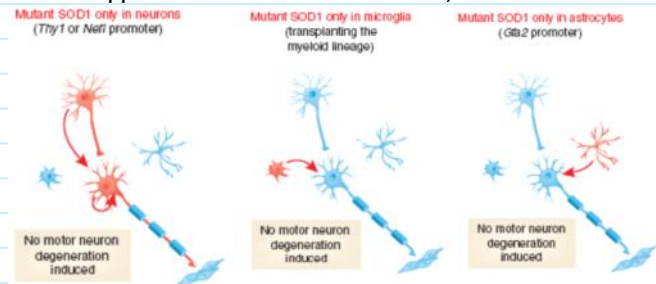
הועלתה ההיפותזה שב-ALS הפגיעה היא non-Cell autonomous, ושהפגיעה חייבת להתרחש בכמה סוגי תאים במקביל כדי לגרום למחלה.

כדי לבדוק את ההיפותזה, ביטאו את ה-SOD1 המוטנטי רק בניורונים ובדקו אם זה יגרום למחלה בעכברים. התוצאה: זה לא גרם למחלה.

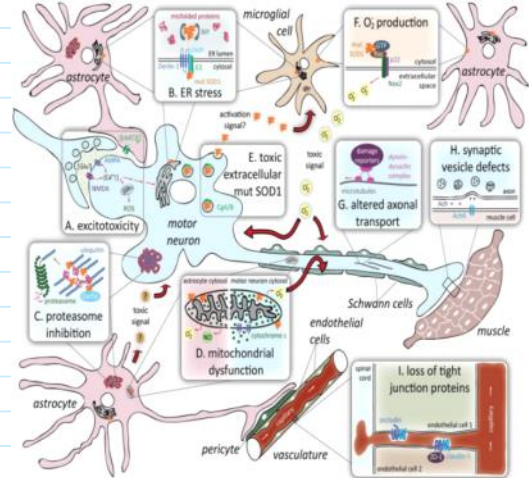
כאשר ביטאו את ה-SOD1 המוטנטי רק במיקרוגליה או רק באסטרוציטים - לא נגרמה מחלה.

כאשר ביטאו את ה-SOD1 המוטנטי בכל התאים מלבד הנוירונים - כן נגרמה מחלה.

זה תומך בהשערה שהפגיעה היא non-cell autonomous - צריכה להיות פגיעה רב מערכתית כדי שהמחלה תתפרץ. מכיוון שיש פגיעה ביותר מסוג תא אחד, לא יכולים להתרחש תהליכי תיקון.



מסקנה: במחלת ה-ALS שהיא מחלה כרונית, המודל הויראלי לא תקף בצורה מלאה. הוא תקף בשני השלבים הראשונים אך לא בשלב השלישי של התיקון. לכן יש דלקת כרונית. מכיוון שבמחלה נפגעים מסלולים שונים, קשה למצוא טיפול אפשרי למחלה. *זה עדיין היפותזה, הראו את זה ב-SOD1, צריך עוד לבדוק מה קורה באנשים אבל זה כיוון המחשבה.



בוחן: איך תיראה הדלקת במוח בעכברי SOD1 KO בהשוואה לעכברים ללא שינוי גנטי?

1. גדולה יותר
2. קטנה יותר
3. אין דלקת

תשובה: 3