

"מהאזוב אשר בארטאס": צמחי רפואה מאזור יהודה במודלים למחלות ניווניות של המוח

ציונה בן-גדליה

אזור יהודה, המשלב אזורי אקלים שונים, מתייחד במגוון צמחים בעלי תכונות רפואיות. בשנים האחרונות נאסף מידע רב הנוגע לתכונות אלו. מאמר זה בא להציג פרויקט לסריקת צמחי המרפא מאזור יהודה ולבחינת היכולת של מיצויי הצמחים להתמודד עם מחלות ניווניות של המוח כמו אלצהיימר, פרקינסון ועוד.

בחלקו הראשון של המאמר נתאר מקור פולקלוריסטי מקומי של שימוש בצמחים. מקורות כגון אלו משמשים לנו כרמזים מכוונים בבואנו לסרוק פעילות צמחי מרפא אזוריים במעבדת המחקר. בחלקו השני של המאמר נתאר את שיטות הסריקה ואת התוצאות הראשוניות שעל גביהן נבנה המחקר.

מקורות פולקלוריסטיים ורקע היסטורי

מהארז ועד האזוב (Crowfoot and Baldensperger 1932) הוא שם ספר שיצא לאור בשנות השלושים המוקדמות בכפר ארטאס ובו מפורטים צמחים שנמצאו במקום והפולקלור המקומי שנאסף אודותיהם. כן כוללת אסופה זו את עולם הפתגמים הקסום הסובב סביב מעגל השנה החקלאי וסביב מחזוריות הטבע וצמחיית הבר באזור.

לכפר ארטאס היסטוריה ארוכה המושפעת ממיקומו בהרי יהודה, מדרום לבית לחם. הכפר נמצא על גבול המדבר אך נהנה מזמינות יחסית של מי מעיינות ומאדמה פורייה. תיאור הפרדס הפורה בארטאס, בו גדלים עצי הדר תפוז, לימון ואף אתרוג, ובסמיכות להם עצי התאנה והרימון המתייחסים לשבעת המינים, מופיע כבר בכתביו של הרופא והבוטנאי ההולנדי ליאונהרד ראול, אשר סייר במזרח התיכון במאה ה־16 בחפשו אחר צמחי מרפא (Ray 1738: 322). בכתביו מייחס ראול את הגנים הנטועים על תעלות ובריכות מים לשלמה המלך על פי הכתוב בקהלת (ב: 5-6): "עֲשִׂיתִי לִי גְנוֹת וּפְרִדָּסִים וְנִטְעֵתִי בָהֶם עֵץ כָּל פְּרִי. עֲשִׂיתִי לִי בְּרִכּוֹת מֵיִם לְהִשְׁקוֹת מֵהֶם יַעַר צוֹמֵחַ עֵצִים" (איורים 1 ו־2).

הכפר הפורה ארטאס שגשג בתקופות של שלטון מרכזי חזק, והידרדר בתקופה שבין המאה ה־17 ועד אמצע המאה ה־19, כתוצאה מחוסר יציבות בטחונית והתפרצויות של בדואים, תושבי האזור – לשטח המיושב. כתוצאה מכך פלאחים עובדי אדמה – החלו נוטשים את הכפרים הקטנים, בין השאר לטובת העיר בית לחם. האדמה שהתפנתה אט אט נרכשה או הוחכרה על ידי נציגי כנסיות, קונסולים ומסיונרים שביקשו לגאול את האדמה על יושביה (Kark 1997).

המושבה הנוצרית בארטס הוקמה בהשפעת תנועה מחשבתית דתית בשם מיליאנריזם. תנועה נוצרית פרוטסטנטית זו נפוצה במאה ה־19 באנגליה, צפון אמריקה ואירופה המערבית, וציפתה לחזרתו ולהמלכתו של ישו הנוצרי. תנועה זו ראתה ב"שיקומם" – המרת דתם של יהודים והחזרתם לארץ הקודש – שלב הכרחי בהכרתו של משיחם, ולכן הקימו חברי התנועה מגוון מוסדות להגשמת מטרותם. בין המוסדות להפצת הנצרות בקרב



איור 1: הכפר ארטס, צילום: בנימין טרופר



איור 2: הכפר ארטס, צילום: בנימין טרופר

היהודים הוקמו בארץ הקודש גם מושבות חקלאיות המשלבות "חינוך" "תיקון" ומסיונריות דתית בהן הועסקו יהודים ומוסלמים. באמצע המאה ה-19 יסד ג'ון משולם (1878-1799) – מומר יהודי ממוצא בריטי, מוסד בכפר ארטאס, והעסיק בו יהודים. אחד האירופאים הראשונים אשר התיישבו בואדי של ארטאס במאה ה-19 הוא הינרייך בלדנספרגר (1823-1896), שהיה בן למשפחת איכרים ובעלי מלאכה מהכפר בלדנהיים באלזאס הצרפתית. הוא הגיע לארץ הקודש כמסיונר במשלחת שוויצרית. לאחר תקופה בירושלים, בה התלבט בדבר אופי שליחותו, ולאחר שנחשף לאזור בריכות שלמה וגניו הנעולים, בחר להצטרף למושבה החקלאית בארטאס שבנה ג'ון משולם ובנה בה את ביתו. הבית המשיך לשמש את משפחתו לחופשות וסופי שבוע גם לאחר שעברו לירושלים – לבקשת הבישוף הפרוטסטנטי עם הקמת בית הספר האנגלי החדש. לאחר מותם של הינרייך וקרולינה אשתו, חלקה ביתם

לואיז את זמנה בין ארטאס וירושלים (Naili 2012).

לואיז (1862-1938), ראתה עצמה כמדענית חובבת. היא אירחה בארטאס חוקרים מתחומי התנ"ך והדתות, אנתרופולוגיה, ארכאולוגיה ובוטניקה והכירה להם את האוכלוסייה המקומית ואת תרבותה. את הספר "מהארז ועד האזוב" (Crowfoot and Baldensperger 1932) היא כתבה יחד עם פולקלוריסטית בריטית – גרייס מארי קרופוט. "בת ציון המתגוררת בגנו של המלך שלמה" כך חתמה לואיז בלדנספרגר את הקדמת ספרה, שהופיע במאי 1931 בלונדון. הסופרות הודו בהקדמתן בין השאר, לגנים הבוטניים המלכותיים בקיו גרדן וכן למחלקה הבוטנית של האוניברסיטה העברית. בפרק המתאר את השימוש בצמחי המרפא מצוטט ג'ון פרקינסון¹ – רוקח ומנתח מלונדון: "מגן עדן של פרחים נעימים נפלתי (כאדם הראשון) לעולם של צמחי מרפא רווחיים, ובייחוד אותם צמחים המרפאים את תחלואי הגוף... וראשון בהם – האזוב" (Crowfoot)

71: 1932 and Baldensperger). הספר ממשיך ודן בצמח האזוב אשר מזוהה כזעתר-מירון (*Origanum Maru L.*), בעל ניחוח העולה מפרחיו הלבנים הקטנים והמרובים. צמח זה נפוץ בסלעיות וקירות מדרגות הסלעים החקלאיות. הסופרות מזהות צמח זה כאזוב המקראי ופורשות דיון במקורות המקראיים והתלמודיים הדנים באזוב.

האזוב זיהויו במקורות הקדומים

עיון במקרא מעלה כי האזוב משמש לטקסי טיהור או חיטוי ואולי אף לכביסה. האזוב אף מוזכר כצמח קטן, הצומח בקיר סלעים, כמשל לדבר חסר חשיבות – "האזוב אשר בקיר" הצנוע ביחס לארז הלבנון אדיר המימדים המסמל גאווה. בפעם הראשונה במקרא (שמות יב: 22) מצוין האזוב בציוויו של משה לזקני ישראל לפני מכת בכורות, כאות שיגן על בני ישראל, כאשר נעשה בו שימוש לסימון המשקוף בדם בפסח מצרים. בהמשך נזכר האזוב בהקשר של טהרה וחיטוי בטקס פרה אדומה (במדבר יט: 6), בטקס טהרת הטומאה (במדבר יט: 18), בטהרת המצורע (ויקרא יד: 4-7), ובטהרת צרעת הבית (ויקרא יד: 49). בהקשר זה נזכר האזוב גם בספר תהילים, בבקשתו של דוד המלך להיטהר מחטאו: "תחטאני באזוב ואטהר, תכבסני ומשלג אלבין" (תהילים נא: 9). מכאן גם למדו חז"ל במסכת סנהדרין כי דוד נצטרע: "אמר רב יהודה אמר רב ששה חדשים נצטרע דוד ונסתלקה הימנו שכנה ופירשו ממנו סנהדרין. נצטרע דכתיב תחטאני באזוב" (בבלי, סנהדרין, דף קז, א).

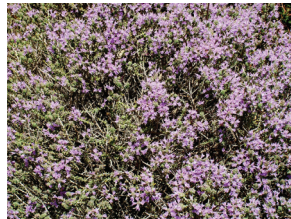
במשנה נזכר האזוב כחלק מקבוצה של צמחים: הסיאה, האזוב והקורנית (ובשמות נוספים הוזכרו כצרתי – צתרי, איזוב איזובא, קורנית קורניתא-קורנס). קבוצת צמחים זו הנזכרת תמיד יחד מנוצלת למספר שימושים: ליקוט לעצי בעירה, מזון לאדם ולבהמה וכן פעולות חיטוי וטיהור טקסי (משנה, פרה, יא, ח). במשניות מסכת פרה נאמר: "אזוב של אשרה ושל עבודת כוכבים ושל עיר הנדחת פסול ושל טהורה לא יזה ואם הזה כשר" (משנה, פרה יא, ד), מכאן שאזוב שימש גם לטקסי פולחן אלילי. לגבי זיהויו המדויק של האזוב, המשנה מציינת שהאזוב המקורי הינו אזוב הנקרא בשם זה בלבד, ללא תוספת לשמו: "כל איזוב שיש לו שם לווי, פסול. איזוב זה, כשר; איזוביון, איזוב כוחלית, איזוב רומי, איזוב מדברי-פסול." (משנה, פרה, יא, ז). כמו התנאים, גם אמוראי ארץ ישראל הכירו את האזוב, אולם אמוראי בבל התקשו יותר בזיהויו ונחלקו בשלוש הצעות זיהוי שונות – אברתא בר המג, מרוא חירוא ושומשוק (בבלי, שבת, קט, ב). בתלמוד הירושלמי נאמר (ירושלמי, שבת, עה, א) "אין אוכלין איזוב יון בשבת לפי שאינו מאכל בריאים". לעומת זאת בתקופת הרמב"ם נראה שהאזוב כבר שימש כמזון גם לבריאים:

"אוכל אדם אוכלין ומשקין שדרך הבריאים לאוכלן ולשתותן, כגון הכוסבר והכשות והאיזוב" (משנה תורה, הלכות שבת, כב, יט). וכן: "והאיזוב האמור בתורה – הוא האיזוב שאוכלין אותו בעלי בתים, ומתבלין בו הקדירות." (משנה תורה, הלכות פרה אדומה, ג, ז). מעניין שתהליך דומה נצפה במהלך ההסטוריה כאשר צמחים אשר שימשו למרפא וטעמם אינו תמיד ערב, אלא מריר או חזק, נכנסו כחלק מהדיאטה – כתיבול, כטעם נרכש. (Crowfoot and Baldensperger 1932:70).

המסורת והזיהוי של האזוב נשתמר בידי פרשני ימי הביניים דוברי וכותבי ערבית כ"צעתר". זוהר עמר מדגים את השתמרות הזיהוי של צמח האזוב כזעתר – *Majorana syriaca*. לדבריו, המסורת נשמרה בתרגומי המקרא – תרגום השבעים ותרגום הוולגטה, דרך תנאים ואמוראים ארץ ישראלים ועד פרשני ימי הביניים – כרס"ג, רמב"ם ואבן עזרא המפרש: "ואין צורך לחפש על האזוב כי הוא ידוע בקבלה" (עמר תשע"ב: 127–129). בספר "מהארז עד האזוב" (Crowfoot and Baldensperger 1932), המונח זעתר מתאר קבוצת צמחים בעלי ניחוחות משותפים הכוללים מיני טימין, אוריגנום, קלמינטה וריחן. המחברות מציינות כי גם דיוסקורידס, אחד מגדולי הרבליסטים אשר פעל במחצית השנייה של המאה הראשונה לספירה, לא ראה צורך לציין את זיהוי של האזוב – כנראה כי היה ידוע וברור לכול². על פי המחברות, בארטאס בתקופת המאה ה־19 ישנה קבוצה של צמחים המכונים זעתר: האזוב – זהו הזעתר ללא תוספת לשמו, המזוהה כ-*Majorana syriaca* – *Origanum Maru* (אזוב מצוי: איור 3). צמחים נוספים מכונים זעתר פרסי – (קורנית מקורקפת איור 4), זעתר סבלי (משובל – צתרנית משובלת איור 5) זעתר חומר ("זעתר של חמורים", צתרה ורודה איור 6) וזעתר מאנה (כלמינתא איור 7) ועוד. חלק מצמחים אלו משמשים להכנת תבלין הזעתר – תערובת המכילה בדרך כלל אזוב מצוי וקורנית מקורקפת המוחלפת לעיתים בצמחים בעלי ניחוח דומה – כצתרנית משובלת או צתרה ורודה. התערובת מכילה גם את פרי אוג הבורסקאים – הסומאק, המעניק חמצמצות וכן זרעי שומשום קלויים או פירות אלה ארץ ישראלית. לעיתים מוגשת חליטת אזוב לתינוקות להרגעת מערכת העיכול, אך לכך מעדיפים את צמח הגעדה (*Teucrium polium*). הזעתר נחשב במסורת המקומית כמסייע לתלמידי בית הספר בלמידה וזיכרון וניתן בייחוד לפני מבחנים. הזעתר נחשב כמעורר את החשיבה ומביא לריכוז. המחברות מתארות כי דרך השימוש היא לאכול זעתר על קיבה



איור 5: צתרנית משובלת, פרופ' דניאל בן גדליה



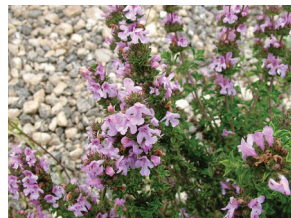
איור 4: קורנית מקורקפת, פרופ' דניאל בן גדליה



איור 3: אזוב מצוי, פרופ' דניאל בן גדליה



איור 7: כלמינתרא אפורה, פרופ' דניאל בן גדליה



איור 6: צתרה ורודה, פרופ' דניאל בן גדליה

ריקה, לשפשף את האזוב סביב האוזניים ובמצח, ומצוטטות את הפתגם המקומי: "האוכל זעתר, לשונו לא תגמגם" (Crowfoot and Baldensperger 1932: 77–78).
 אמוץ דפני (2015) כותב כי: "עלי האזוב ראויים למאכל כמות שהם, אך מעיכתם מוסיפה את שיכרון הריח למימד הטעם. עלי החורף הרחבים והגדולים מתונים בטעמם, ולקראת הקיץ הם מתחלפים בעלים קטנים יותר במימדיהם אך תקיפים יותר בטעמם".
 מעניין שתיאורי המשנה והגמרא מתארים את שלב התפתחות האזוב המכיל פרחים או פירות שנשרו כשלב המתאים לטקס הטהרה. שלב זה מתרחש בתקופת הקיץ.

מטרת המחקר

במחקרנו אנו משווים פעילות של מיצויים מצמחים מקבוצת ה"זעתר", ואנו משווים בין עלים הנקטפים בעונת החורף לאלו הנאספים לקראת הקיץ. אמוץ דפני מתאר: "איסוף הזעתר לצורכי תבלין נעשה ממש לפני הפריחה, כאשר ריכוז החומרים בצמח הוא מירבי, ואז מתחלפת המתקופות בחריפות מרירה. זהאמת הבוטנית היא, שבכל מחזור חיים של צמח הבשלת זרעים היא השלב החשוב בהבטחת הדור הבא. ריכוז החומרים המירבי בעת הפריחה ואחריה עשוי להבטיח יותר הגנה מפני אוכלי העשב למיניהם". ועל כן אנו בוחנים השפעה של מיצויים מחלקי הצמח השונים: עלים, פרחים, פירות וגבעולים, לעומת חלק עילי שלם של הצמח. כאמור, הערך הרפואי העיקרי של האזוב מוגדר כמעורר את הפעילות המוחית והזיכרון. בעקבות הזיהויים השונים לצמח האזוב וכן עקב הדמיון בחומרי הטבע בקבוצת צמחי האזוב, אנו סורקים את פעילותם במודלים שונים למחלות ניווניות של המוח (ניורודגנרטיביות). בנוסף לצמחים אלו אנו בוחנים צמחי מרפא נוספים כולל המרווה הריחנית והמרווה המשולשת, זוטא לבנה וגעדה מצויה.

סריקת מיצויים מצמחי מרפא אזוריים במודלים למחלות ניורודגנרטיביות במעבדת המחקר

תהליך הסריקה

1. סקירה ביבליוגרפית: זיהוי צמחים המשמשים ברפואה המסורתית-מקומית לבעיות זיכרון ומערכת העצבים
2. הכנת מיצוי צמחי (צורות מיצוי אפשריות – מרתח מימי, מיצוי אלכוהולי)
3. טיפול במודלים תאיים למחלות ניווניות של המוח, מדידה וכימות תוצאות
4. יצירת "ארגז כלים צמחי" לאיזון מנגנונים ביוכימיים הקשורים במחלה

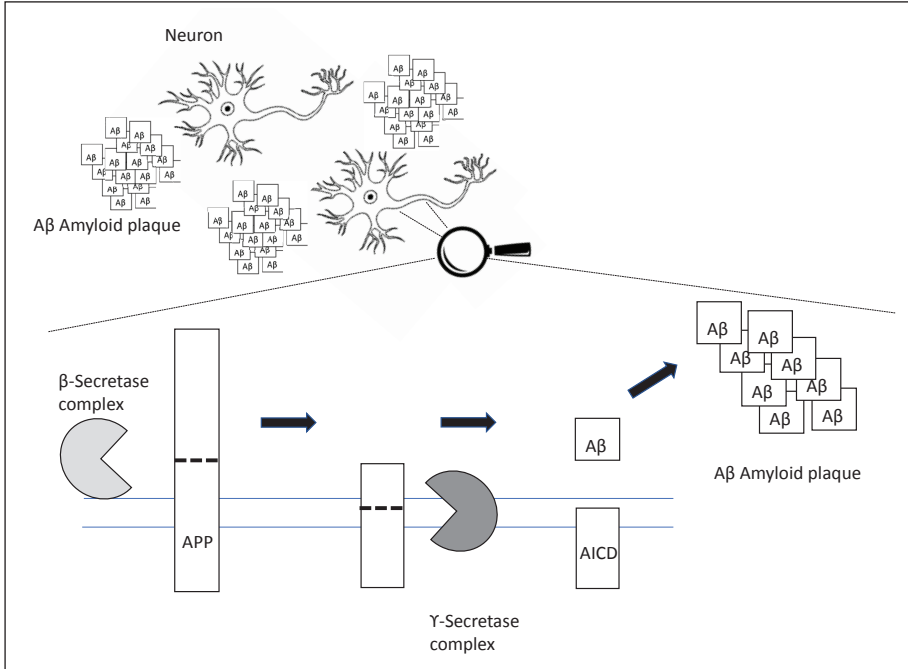
רקע מדעי

שימור ותחזוקה של תקינות מכלול חלבוני התא כונה בשם "פרוטיאוסטזיס" ומוגדר כמצב שיווי משקל תפקודי של חלבוני התא בתאים, ברקמות, באיברים ובאורגניזם השלם (Balch et al 2008). החלבונים החדשים נוצרים בתא כשרשרת של חומצות אמינו אשר רצפן נקבע על פי המידע המקודד גנטית במולקולת ה-d.n.a. (DNA). הרצף המדויק של חלבון מסוים נמסר על גבי רצף חומצות הגרעין במולקולת ד.n.a. שליח (mRNA) שהועתק מתוך

מולקולות הד.נ.א. תוך כדי יצירת החלבון מתקפלת שרשרת חומצות האמינו לצורה תלת מימדית ייחודית המעניקה לחלבון את תפקודו המסוים. היכרות בין החלבון למולקולות אחרות עימן או עליהן הוא פועל הינה בהתאמת מבניות כדוגמת "מפתח למנעול" ומכאן החשיבות העצומה של רכישת הצורה התלת מימדית הנכונה והתיפקודית. על אף שמרבית החלבונים הנוצרים ביצורים חיים אכן מגיעים למבנה התקין והתפקודי, תחת תנאי עקה מסויימים הכוללים בין השאר את תהליך ההזדקנות, חלק ממולקולות החלבונים מקופל קיפול תלת מימדי שגוי. כתוצאה מקבלת מבנה שגוי עלולות להיווצר אינטראקציות מזיקות בין מולקולות חלבון אלו. במקרים מסויימים מולקולות החלבון נצמדות זו לזו ויוצרות יחידות של דימרים (מולקולות שמכילות כפולה של תתי-יחידות) טרימרים (כפולה של שלוש) ואף אוליגומרים (מרובה מכפלות) במקום להיות כמונומר (יחיד). בעוד חלק מהצורונים השגויים הללו נותרים במצב מסיס בתא, חלק אחר הופך לבלתי מסיס וחלקו אף שוקע כאגרגטים (צברים) ומצטבר בתא. המילה "עמילואיד" משמשת לתיאור של חלבון בלתי מסיס, יוצר אגרגטים ומאופיין במבנה שניוני העשיר ב"משטחי בטא".

במחקר כיום מזהים חלק מהצורונים הללו כתפקודיים וחלק אחר כמזיקים. מחקרים שונים חלוקים אודות הצורונים הפתולוגיים: אילו צורונים מחוללים מחלה ואילו צורונים מזיקים פחות, ואולי אף מגינים על התא. בעוד התאוריה הקלאסית "תאוריית העמילואיד" הצביעה על האגרגטים הבלתי מסיסים כמחוללי הפגיעה במוח במחלות כדוגמת אלצהיימר, מחקרים עדכניים יותר (Ben-Gedalya and Cohen 2012; Ben-Gedalya et al. 2015; Ben-Gedalya and Cohen 2016) מוצאים כי דווקא הצורונים המסיסים בתא הם אשר לוקחים חלק בפגיעה בתא, ואילו האגרגטים ששקעו הינם מבודדים יותר מפעילות התא ועל כן מהווים מנגנון התמודדות והגנה על ידי בידוד והשקעה של צורונים מזיקים.

תאים ואורגניזמים פיתחו מנגנונים לפירוק וסילוק אותם חלבונים, כאשר זרוע אחת פועלת על ידי עיכול החלבון הפגום ואילו זרוע אחרת שולחת צברי חלבון פגומים לגופיפי השקעה תאיים. תהליכים אלו נמצאו קשורים במחלות ניווניות של המוח, כולל מחלת אלצהיימר פרקינסון, ALS ועוד. מבין מחלות אלו, מחלת האלצהיימר הינה המחלה הנירודגנרטיבית הנפוצה ביותר. מחלה זו אינה ניתנת כיום לריפוי. המחלה מתאפיינת באובדן מתקדם של תפקוד קוגניטיבי כולל זיכרון ולמידה. המסלול הביוכימי ה"קלאסי" הנתפס כמחולל פתולוגיה בתחום האלצהיימר מצביע על חלבון המצוי בקרום התאים ונקרא APP - ראשי תיבות של Amyloid Precursor Protein - חלבון פרה-קורסור (כלומר חלבון ראשוני שעובר אחר כך חיתוך) והופך לעמילואיד (חלבון בלתי מסיס האופייני להצטברות במוח של חולי מחלות נירודגנרטיביות). החלבון APP עובר סדרת חיתוכים בידי קומפלקסים חלבוניים (קומפלקס - מורכב ממספר חלבונים העובדים יחד). לאחר חיתוך בידי קומפלקס מסוג בטא סקרטאז, המקטע הנותר של חלבון ה-APP נחתך על ידי קומפלקס נוסף הנקרא גמא סקרטאז. התוצרים של חיתוכים אלו הינם שני מקטעים: קטע הנשאר מעוגן בקרום התא (AICD) ולמקטע A beta המשתחרר אל המרווח הבין תאי במוח ויוצר שם פלאקים - אגרגטים. פלאקים אלו המוקפים בשלוחות נירונים פגועים, נחשבים כסמן פתולוגי המצוי במוחות חולי האלצהיימר ונצפה על ידי צביעות פתולוגיות לאחר המוות (איור 8).

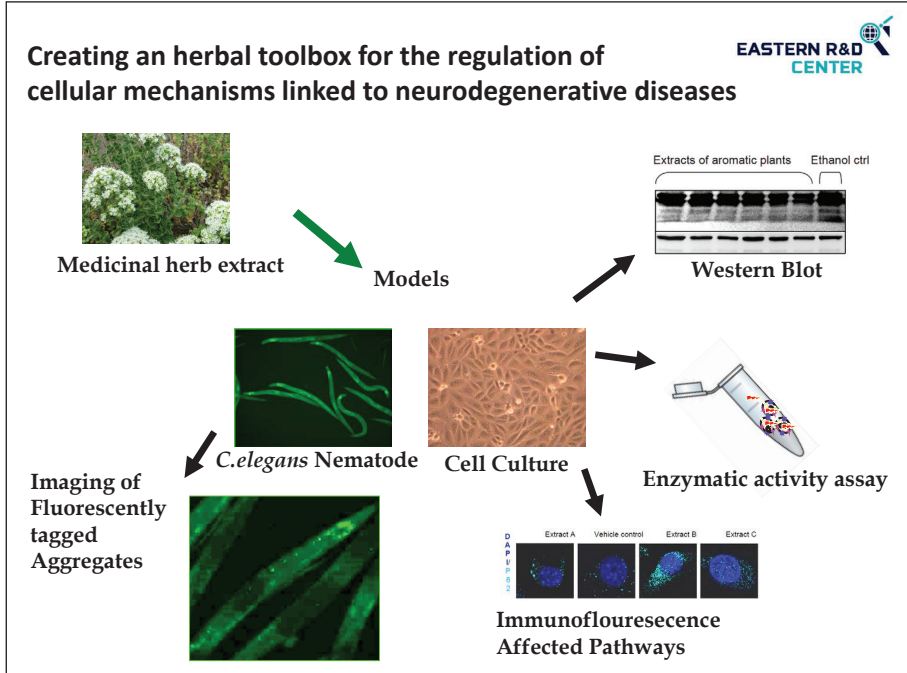


איור 8: תהליך חיתוך והצטברות חלבון פתוגני במחלת האלצהיימר

גורם סיכון ראשוני למחלות אלו הינו גיל מבוגר. עם הזדקנות אוכלוסיית העולם עולה בצורך במחקר של מחלות נירודגנרטיביות ובתועלת הפוטנציאלית של שימוש בצמחי מרפא ומיצויי צמחים פעילים כנוגדים את תהליכי הניוון וההזדקנות. במחקר זה אנו משלבים סריקה במודלים התואמים את התאוריה הקלאסית אך גם במודלים המאפשרים התמודדות עם מנגנוני נזק נוספים הקשורים באיזון חלבונים תקינים ותפקודיים.

ייחודו של אזור יהודה המשלב אזורי אקלים שונים מתבטא במכלול צמחים מגוון ובהם צמחים בעלי פעילויות רפואיות פוטנציאליות. בשנים האחרונות נאסף מידע רב הנוגע לתכונות הרפואיות השונות של צמחים אלו. בין השימושים המוכרים של מיצויי צמחים אלו ניתן להכליל פעילות אנטי חיידקית ופטרייתית, נוגדי דלקת, פעילות אנטי סרטנית, נוגדי חמצון ופעילות נוגדת סכרת (Budovsky et al. 2014).

במסגרת הפרוייקט אנו סורקים ספריית צמחי מרפא מאזור יהודה ובוחנים את יכולת התמיכה והעיכוב של מיצויים אלו במודלים תאיים בצלחת הפטרי וכן במודל אורגניזם שלם אך פשוט – תולעת ה-*C.elegans* (Volovik, Marques and Cohen 2014) ובשלב הבא במודלים עכבריים. המודלים הינם מודלים למחלות נירודגנרטיביות המופיעות בגיל מאוחר ובייחוד מחלת האלצהיימר (איור 9).



איור 9: תרשים זרימה של המחקר

מודלים:

מודלים תאיים: תרביות תאים שמקורם בתאי יונקים, כולל תאים עכבריים ותאים אנושיים הגדלים בצלחת פטרי. שיטות הביולוגיה המולקולרית מאפשרות ביטול של גנים מסוימים בכדי לבחון את חיוניותם למנגנוני הגנה כנגד מחלות. בנוסף, לאחר ביטול ביטוי של גן מסוים, ניתן להחדיר מקטע ד.נ.א שמקודד לאותו גן, אך מכיל מוטציה – שינוי ברצף הד.נ.א. כך ניתן לחקור מוטציות משפחתיות העוברות בתורשה במשפחות של חולי אלצהיימר גנטי. כך גם ניתן להשוות ולמדוד פעילות ביוכימית מסוימת בתאים בעלי גן תקין, תאים ללא ביטוי הגן ותאים בהם מבוטא גן מוטנטי בעל רצף שגוי ופתוגני – מחולל מחלה.

מודל תולעת ה-C.elegans

תהליך ההזדקנות נחשב כיום כתהליך מבוקר ומתוזמן ולא כפי שנחשב בעבר, נזק סטוכסטי (אקראי) המצטבר עם הזמן. תהליך ההזדקנות מבוקר ומווסת ברמה הגנטית. במשך השנים נחקרו ואופיינו מסלולים ביוכימיים וכן גנים המעורבים בתהליך ההזדקנות ומשפיעים על אורך החיים. מספר מנגנונים נמצאו כמווסתים את תהליך ההזדקנות ובניהם: הגבלת מזון – Dietary restriction, פעילות מיטוכונדריה, מסלול העברת האותות דרך הקולטן לאינסולין והורמון גדילה IGF1 ועוד.

אחד המודלים האטרקטיביים לחקר ההזדקנות הינה נמטודת ה-*Caenorhabditis elegans* – ובקיצור *C.elegans* – תולעת שגודלה כ־1 מילימטר, הניזונה מחיידקים כגון *Escherichia coli*. התולעת הבוגרת מסוגלת להטיל כ־300 ביצים בתקופת הפוריות ומחזור החיים שלה קצר – 3 ימים מבקיעת לרוות מן הביצה ועד התפתחות לתולעת בוגרת. כך קל להגיע לאוכלוסיית מחקר בגודל משמעותי ובזמן קצר יחסית. אורך חייה הקצר של התולעת, בממוצע 19 יום (בטמפרטורת גידול של 20C), מאפשר מחקר מהיר יחסית של תהליך ההזדקנות, במיוחד כאשר משווים למודל עכברי (אצלם הזקנה מתחילה בגיל שנה וחצי ועד שלוש שנים). התולעת הינה בעלת מספר תאים מצומצם – 959 תאים ומתוכם 302 תאי עצב – כך שהמערכת פשוטה וקל לעקוב אחר תא מסוים. למרות הבדלים עצומים אלו, המסלולים הביוכימיים והגנום שמורים היטב בין התולעת לבני אדם. מבחינה גנטית, כ־83% מהגנים בתולעת שמורים במהלך האבולוציה וקיימים כאורתולוג (גן מקביל בעל מקור אבולוציוני משותף) בגנום האנושי.

מאגרי מידע ובסיסי נתונים נגישים מאד לקהילה המדעית העוסקת במודל: תולעת הסי אלגנס הינה היצור הרב תאי הראשון אשר עברו רוצף הגנום בשלמותו. בנוסף פותחו שיטות המאפשרות בקלות יחסית להכין תולעים טרנסגניות המבטאות גנים מסויימים או מוטציה בגן מסוים. מבחינת התרבות, התולעת מופיעה בשני מופעים: זכר והמופע הנפוץ – הרמפרודיט המכילה גם זרע וגם ביציות ומסוגלת להפרות את עצמה. כך ניתן גם להכליא זנים שונים. קל מאד גם לשתק גנים: האכלת התולעת בחיידקים המבטאים מקטעי חומצת גרעין ר.ג.א מסוג RNAi יגרום לקישור מקטעים אלו לרצפי ר.ג.א של יח מסויימים בתא וכתוצאה מכך לפירוקם במקום לביטויים כחלבון. התולעים הינם שקופות, תכונה המאפשרת מעקב מיקרוסקופי אחר חלבונים המסומנים בתג פלורסנטי. תולעים מזדקנות מאופיינות בתהליכים המקבילים למתרחש בבני אדם, בין השאר מתרחש ניוון של השרירים המוביל לתנועה איטית ופחות מתואמת. לסיכום, היתרונות הברורים כוללים מהירות, שיטות מפותחות ומנגד דמיון למתרחש במהלך ההזדקנות בבני אדם (Volovik, Marques and Cohen 2014).

המחקר נערך בשיתוף עם פרופסור אהוד כהן מהאוניברסיטה העברית בירושלים ועם פרופסור חנה רזנמן מהמרכז הרפואי אוניברסיטאי הדסה עין כרם. במעבדתו של פרופסור אהוד כהן באוניברסיטה העברית בעין כרם, נחקר מסלול ההזדקנות המתווך על ידי תמסורת אינסולין והורמון גדילה IGF1. מחקרו גילה כי הפחתת מסלול זה בתולעים ובעכברים מגן על חיות המודל מפני רעילות חלבונים הקשורים במחלת האלצהיימר. זנים מסויימים של תולעים ישמשו למחקר, לדוגמה זן שהונדס כך שיבטא את המקטע החלבוני A beta בשרירי הגוף של התולעת. המדד למחלה במקרה זה הינו האטת התנועה של התולעת כתוצאה מרעילות המקטע החלבוני בתאי השריר.

ככדי למצוא חומרים פעילים המגנים על תאי עצב, בחרנו לבדוק השפעות מיצויים צמחיים של צמחי מרפא הידועים ברפואה העממית-מסורתית כמעודדי זיכרון ובריאות מערכת העצבים. מיצויים צמחיים מציגים יתרון בתחום בטיחות השימוש הידועה מאות שנים. ההרכב הכולל תערובת פיטוכימיקלים מאפשר פעילות סימולטנית כנגד מטרות מרובות במסלולים ביוכימיים מגוונים המקושרים לתהליך ההזדקנות.

שיטות המחקר:

מיצוי

מיצוי הצמחים מתבצע מצמחים אשר יובשו לאחר הקטיף בטמפרטורת חדר וללא תאורה, בתנאי אוורור נאותים. לאחר ייבוש ניתן להפריד חלקי צמח שונים: פרחים/עלים/גבעולים או להשאיר חלק עילי שלם של הצמח. לאחר מכן נטחנים הצמחים המיובשים וממוצים על ידי ערבוב באתנול ביחס של X10 נפח לכל גרם צמח טחון. ניתן לבצע מיצוי משני של החומר הצמחי הטחון ואז לסנן ולנדף את האתנול. החומר המנוסף מוקפא, עובר תהליך ייבוש וליאופיליזציה (הקפאה יבשה) והחומר היבש נשמר ב-4 מעלות צלזיוס. אבקה זו נמהלת לפני השימוש ב-10% DMSO בתוך נוזל פיזיולוגי (הכולל מלחים) כ-PBS. המיצוי אז מחולק למנות ומוקפא עד לשימוש.

סריקת פעילות מיצויים במודלים תאיים

ראשית מצאנו את ריכוז המיצוי אשר ניתן לעבוד עמו על ידי צפייה בהשפעת המיצוי על צפיפות גדילת התאים. ריכוז אשר בו המיצוי פגע ביכולת התאים להתרבות או לשרוד הורד עד לרמה בה חיות התאים לא ניזוקה. לאחר מכן סרקנו את יכולת מיצויי צמחים שונים לווסת פעילות הקשורה במחלת האלצהיימר. כפי שהסברנו בפרק הרקע המדעי, המסלול הקלאסי המאופיין במחלת האלצהיימר הינו מסלול חיתוך חלבון ה APP על ידי קומפלקס הגמא סקרטאז. על כן ראשית בחנו את יכולת המיצויים להשפיע על תהליך חיתוך זה. הניסוי נערך בתאים עכבריים נורמליים כאשר לתוכם החדרנו ד.נ.א המקודד ליצירת המצע לראקציה (תגובה), הלא הוא חלבון ה-APP, לו הצמדנו רצף קצרצר הקרוי myc המאפשר זיהוי בעזרת נוגדן ל-myc. לאחר החדרת הד.נ.א, ניתן לתאים לתרגם מקטע זה לחלבון ואז לחתוך אותו על ידי הגמא סקרטאז האנדוגני (המתבטא באופן טבעי) המצוי בתאים. לאחר 24 שעות בהם החלבון APP-myc מבוטא בתאים ועובר חיתוך על ידי קומפלקס הגמא סקרטאז, נקצרים התאים ומופק מהם החלבון. לאחר מדידת כמות החלבון הכללית, מוטענת כמות שווה בבאריות של ג'ל אקריל אמיד המחובר למעגל חשמלי ומצוי בתוך אמבט המכיל נוזל הרצת חלבון. בעת חיבור למעגל החשמלי ינדדו החלבונים שהוטענו בבארית וירוצו בתוך הג'ל בהתאם לגודלם. לאחר סיום ההרצה החלבונים מוספגים בממברנה מיוחדת בתהליך הנקרא "הספג מערבי". לאחר מכן נצבעת הממברנה על ידי קישור של נוגדן המכיר את התג החלבוני myc. לנוגדן זה קושרים נוגדן נוסף המגיב בראקציית אור הניתנת לצילום וכך מתקבל דגם ריצת החלבון וגדליו היחסיים. שימוש בשיטה זו באקסטרוקטים של תאים שטופלו במיצויי צמחים שונים העלה כי יש צמחים המעלים את החיתוך ויש צמחים המורידים את החיתוך. המשך המחקר בוחן את הריכוזים הדרושים לפעילויות אלו וכן את היכולת של הצמחים להתמודד עם רעילות הנגרמת מתוצר החיתוך A beta.

סיכום ודיון

ממחקרים קודמים שלנו ושל אחרים, ניתן כיום להבין כי מחלת האלצהיימר איננה מחלה אחת אלא אוסף מחלות הדורשות סיווג ואפיון. נחוץ מחקר שיקדם אפיון אישי של

המחלה על פי סמנים (ביו-מרקרים) וכן מענה של טיפול מותאם אישית. לפי הההיפותזה המרכזית של מחלת האלצהיימר המחלה נגרמת עקב הצטברות של חלבון עמילואידי וכי מוטציות משפחתיות או תהליכים סביבתיים המגבירים את חיתוך חלבון APP לאיי בטא מובילים להחמרה ולחולי (Selkoe and Wolfe 2007). לעומת היפותזה רווחת זו, בשנים האחרונות נמצא כי יש מוטציות תורשתיות המובילות למחלת האלצהיימר ובהן לא רק שתהליך החיתוך אינו עולה – כי אם יורד (Shen and Kelleher 2007). משמעות הדבר היא כי כל יציאה מאיזון גורמת לפתולוגיה – ירידה או עלייה בחיתוך עלולים להוביל למחלה. על כן מחקרנו מתמקד באפיון ההשפעות של צמחי מרפא על מגוון מנגנונים המעורבים בהגנה בפני מחלת האלצהיימר ולא רק בתאוריית העמילואיד. שאיפתנו היא להוביל לאפשרות עתידית של התאמה אישית של קוקטייל תרופתי וצמחי על מנת להחזיר את האיזון בתהליכים אלו.

הממצאים הראשוניים במחקרנו אכן מעודדים, ומדגישים את פעילותם של צמחי מרפא בתהליכים הקשורים במחלת האלצהיימר ובכלל בתחום המחלות הניווניות של המוח. צמחי המרפא שנבחרו צומחים באזור יהודה, ובמשך אלפי שנים הרפואה העממית והמסורתית השתמשה בהם לטיפול במערכת העצבים, הזיכרון והזדקנות. בניגוד לתרופות בהן נעשה בדרך כלל ניסיון לבודד רכיבים פעילים בצמח מסוים, ברפואה המסורתית קיימת ההבנה שבכל צמח יש מספר מרכיבים הפועלים במספר מסלולים. אנו מעוניינים לגייס יכולות אלו לויסות של מנגנונים שונים הפועלים יחד במסלול הפתולוגי. חלק מהצמחים הנחקרים הינם מוגנים/שמורים, ולכן המחקר נעשה בתיאום עם רשות הטבע והגנים ובייעוץ של הגן הבוטני בירושלים. בהמשך המחקר נייחס חשיבות גם להבנת תנאי הגידול האופטימליים אשר יחקו את תנאי הגידול של צמחיית הבר, על מנת לוודא שריכוז החומרים הפעילים בצמחים יהיה מיטבי. בשלבים מתקדמים יותר אפשר יהיה לבדוק את השפעתם של הצמחים על התנהגות וזיכרון בעכברים. מטרתנו היא שמיפוי פעילויות צמחים אלו יאפשר יצירת "ארגז כלים צמחי" לויסות תהליכים המעורבים במחלה.

הערות

- * המחקר עליו מתבסס המאמר מתבצע במימונו של משרד המדע.
- 1 בנו של ג'ון פרקינסון הינו ג'יימס פרקינסון – מנתח ורוקח, אשר מתאר לראשונה בחיבורו אודות "מחלת הרעידות" את אותה מחלה ניוונית של המוח הידועה כיום בשמו – מחלת הפרקינסון.
 - 2 דיוסקורידס היה רופא בצבא הרומאי, פרמקולוג ובוטנאי יווני, אסף את ידיעות צמחי המרפא לקובץ אשר הפך לטקסטבוק של העולם המתורבת – "De Materia Medica".

רשימת מקורות

עמר ז' תשע"ב. צמחי המקרא: בחינה מחודשת לזיהוי כל הצמחים הנזכרים בתנ"ך לאור מקורות ישראל והמחקר המדעי. ירושלים.

דפני א' 2015. מרשתת: http://onegshabbat.blogspot.co.il/2015/08/blog-post_5.html

- Balch W. E., Morimoto R. I., Dillin A., and Kelly J. W. 2008. Adapting Proteostasis For Disease Intervention. *Scienc* 319 (5865): 916-919.
- Ben-Gedalya T. and Cohen E. 2012. Quality Control Compartments Coming of Age. *Traffic* 13(5): 635-642.
- Ben-Gedalya T., Moll L., Bejerano-Sagie M., Frere S., Cabral W. A., Friedmann Morvinski D., Slutsky I., Burstyn-Cohen T., Marini J. C., and Cohen E. 2015. Alzheimer's Disease-Causing Proline Substitutions Lead to Presenilin 1 Aggregation and Malfunction. *EMBO J.* 34(22): 2820-2839.
- Ben-Gedalya T. and Cohen E. 2016. From Mutated Genes to Familial Alzheimer's Disease. *Cell Cycle* 15(7): 877-878.
- Budovsky A., Shteinberg A, Maor H., Duman O., Yanai H., Wolfson M. and Fraifeld V. E. 2014. Uncovering the Geroprotective Potential of Medicinal Plants From the Judea Region of Israel" *Rejuvenation* 17(2): 134-139.
- Selkoe DJ and Wolfe MS. 2007. Presenilin: Running With Scissors in the Membrane *Cell* 19;131(2): 215-221.
- Crowfoot G.M. and Baldensperger L. 1932. *From Cedar to Hyssop: A Study in the Folklore of Plants in Palestine*. London.
- Kark R. 1997. Land Purchase and Mapping in a Mid-Nineteenth-Century Palestinian Village. *Palestine Exploration Quarterly* 129:2. Pp. 150-161.
- Naili F. 2012. Before the Templers: The Millenarist Settlement in Artas II, *Jerusalem Quarterly* 50: 37-46.
- Ray J. 1738. *A collection of curious travels and voyages, containing, Dr. Leonhart Rauwolf's journey into the eastern countries*. London (The second edition corrected and improved. ed., Eighteenth Century Collections Online). Pp. 322.
- Shen J. and Kelleher RJ 3rd. 2007. The Presenilin Hypothesis of Alzheimer's Disease: Evidence For a Loss of Function Pathogenic Mechanism. *Proc Natl Acad Sci USA* 104(2): 403-409.
- Volovik Y, Marques FC and Cohen E. 2014. The Nematode *Caenorhabditis Elegans*: a Versatile Model For the Study of Proteotoxicity and Aging. *Methods* 1;68(3): 458-464.