

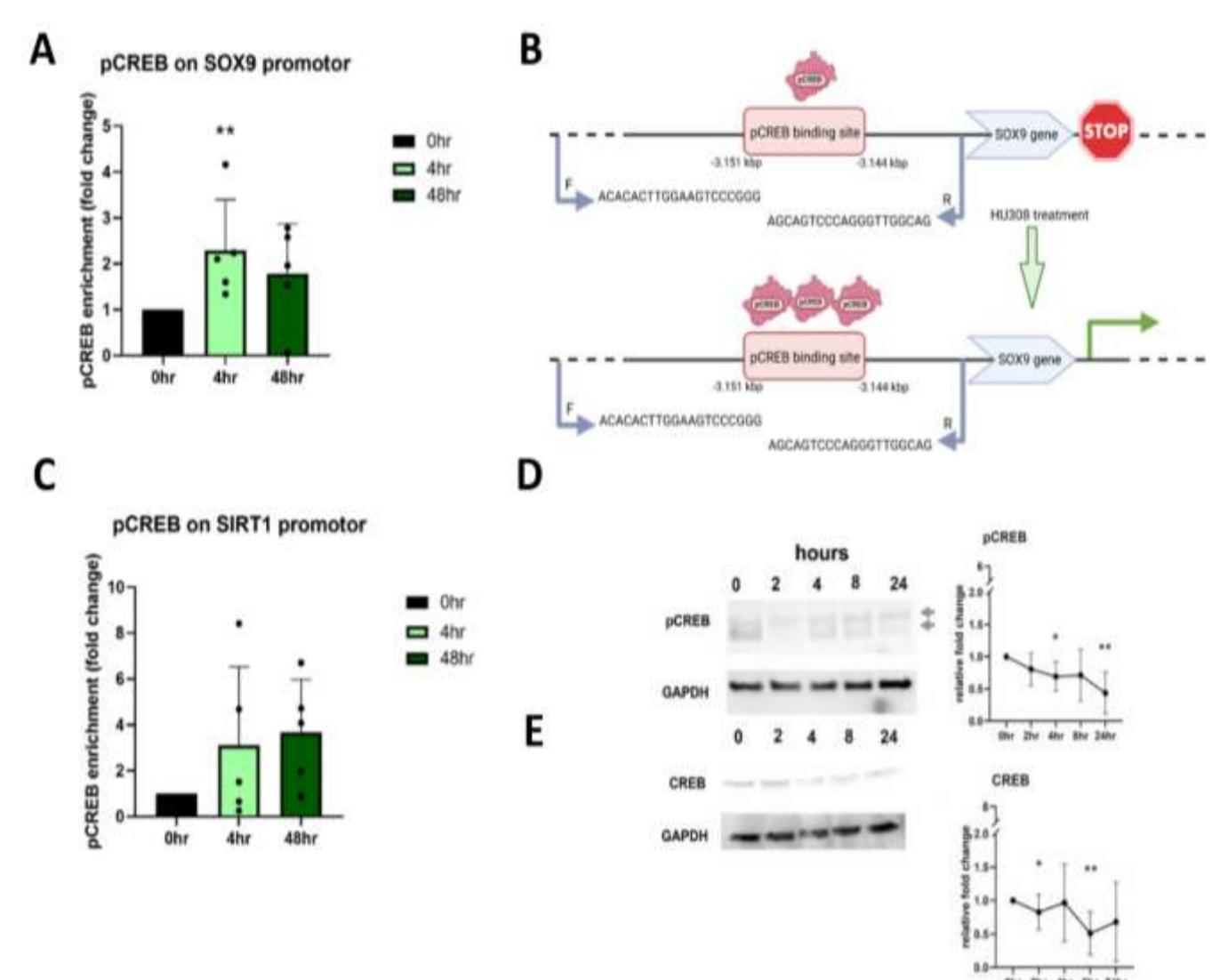


CB2OA

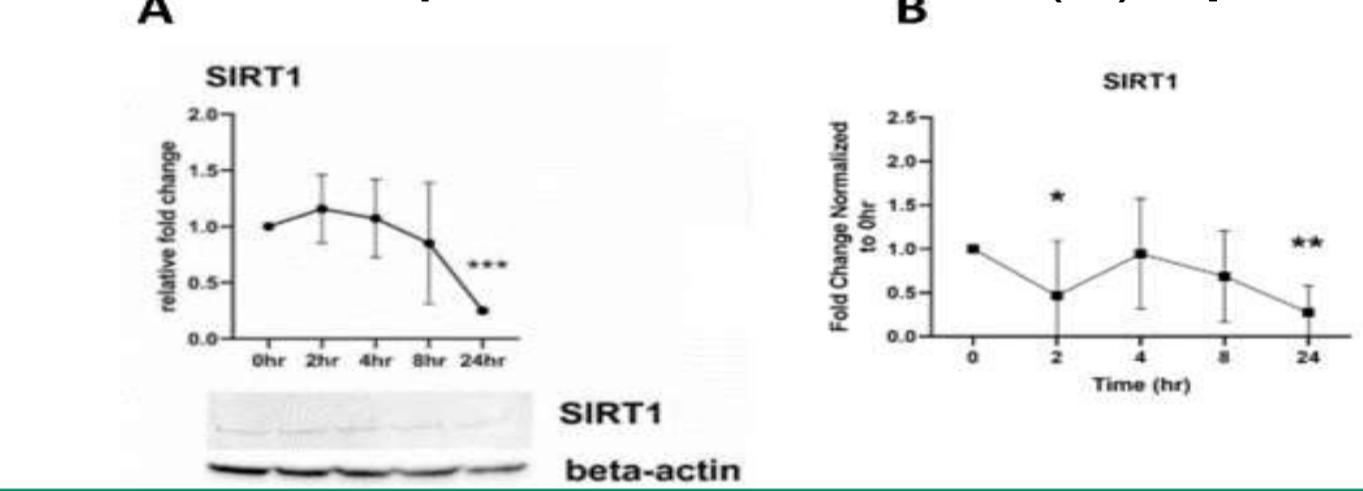
שימוש באגוניסט סינטטי HU308 ל CB2 לטיפול באוסטוארטריטיס



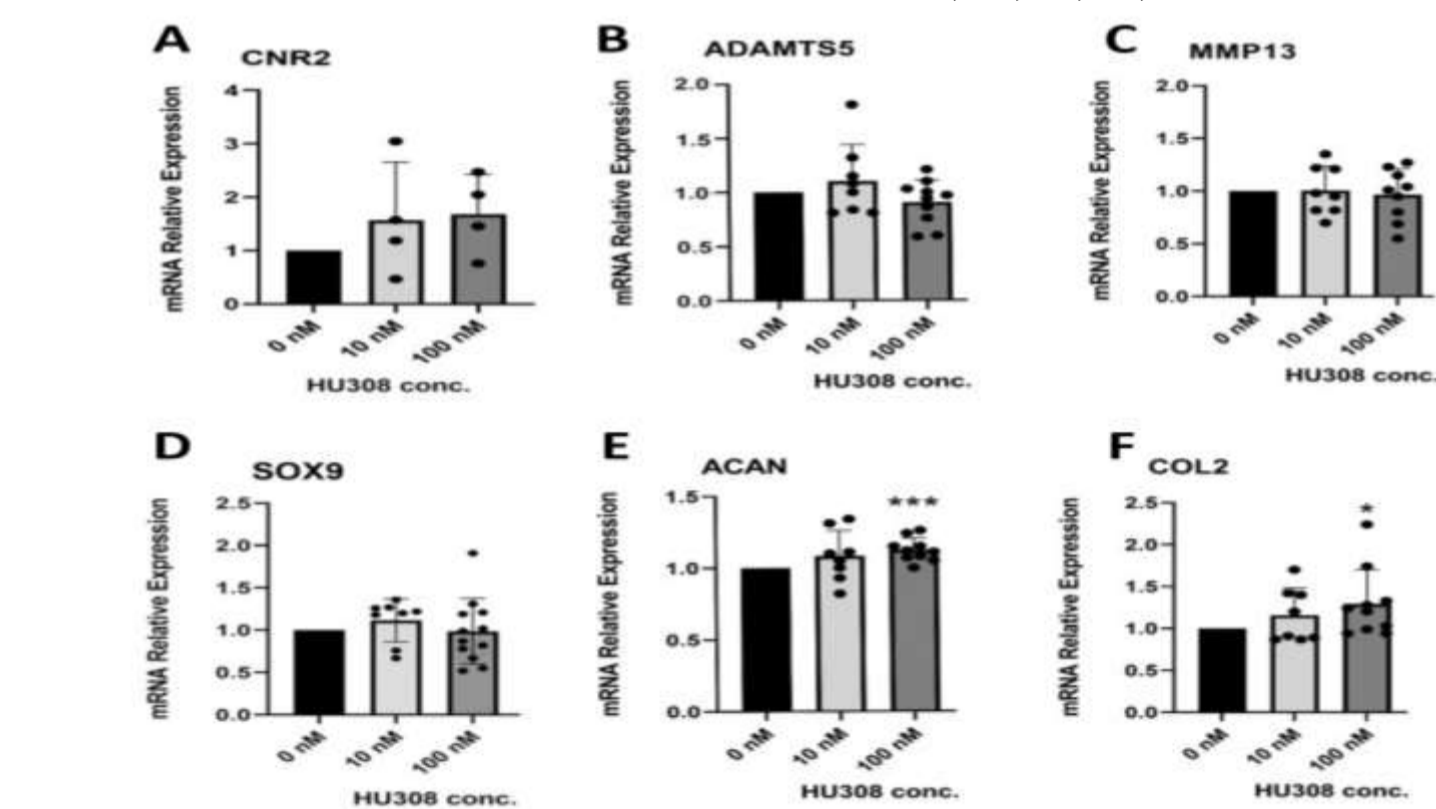
טיפול ב-HU308 לאורך זמן מביא לעלייה ב-SOX9 וגני המטרה שלו.
 בהדגרת HU308 100nM למשך 0,2,4,8,24 שעות נמדדו רמות (A) חלבון SOX9; mRNA של SOX9 (B); COL2 (C); ACAN1 (D); SIRT1 (E); PRG4.



טיפול ב-HU308 לאורך הזמן הוא לא הגורם המביא להטבה בסחוס
 (A) רמות חלבון ו-SIRT1 mRNA (B) לאורך 24 ש' טיפול ב-HU308.



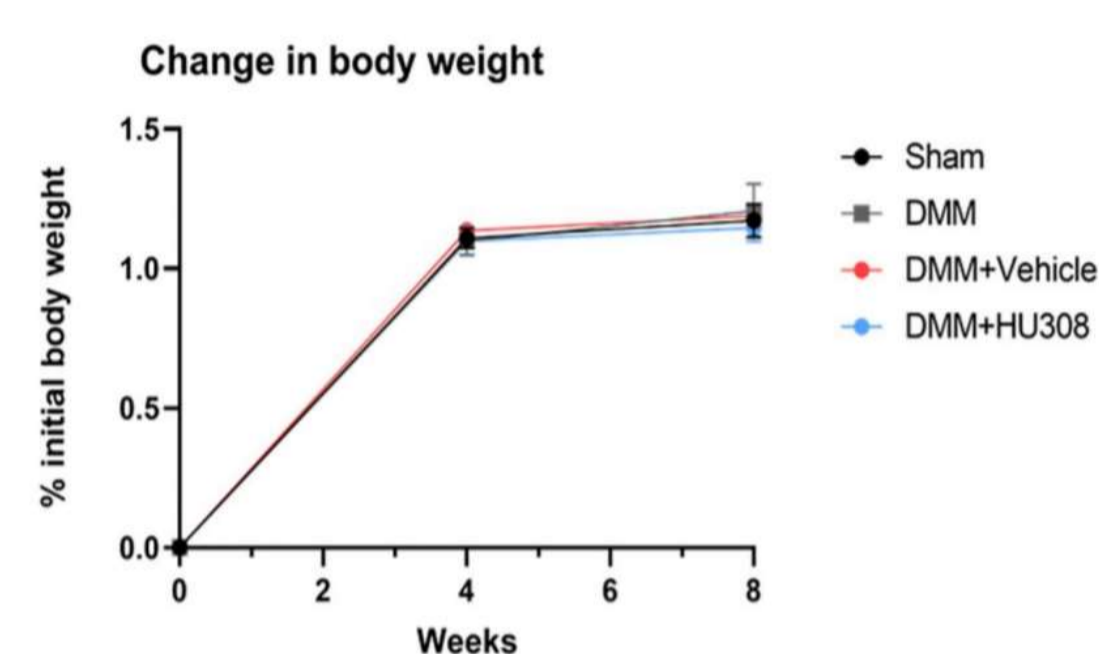
טיפול ב-HU308 מעלה העשרת pCREB על הפרומטר ל SOX9.
 (A) רמות העשרת pCREB על הפרומטר ל SOX9 למשך 0,4,8,24 שעות טיפול. (B) תרשים אזור קישור החלבון pCREB. (C) רמות העשרת pCREB על הפרומטר ל SIRT1 למשך 0,4,8,24 שעות טיפול. (D) רמות חלבון pCREB ו-(E) CREB לאחר 0,2,4,8,24 שעות הדגרה עם HU308.



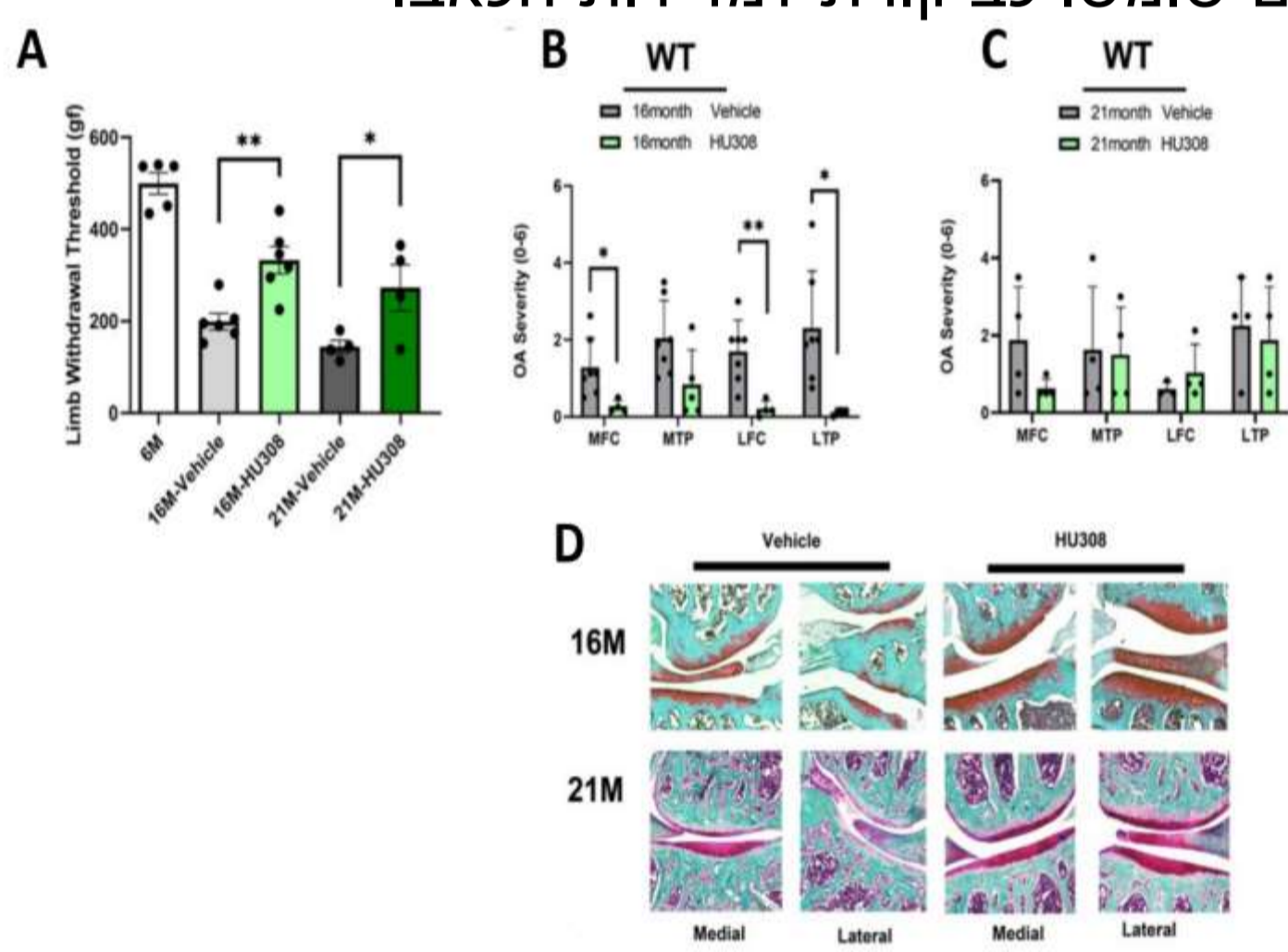
חשיבות המחקר

המחקר שלנו מהווה בסיס מחקרי לפיתוחים אחרים וחדשניים בתחומים של מחלות פרקים והמערכת האנדוקרינית. בנוסף אנו מקווים שפיק ממנו תרופה שתתרום רבות לאוכלוסיית החולים בעולם, ובין היתר תשפר את מצב שוק העבודה בקרב באוכלוסייה המבוגרת יותר. כמוכן גם איכות חייהם של מיליוני מטופלים תשתפר באופן עצום.

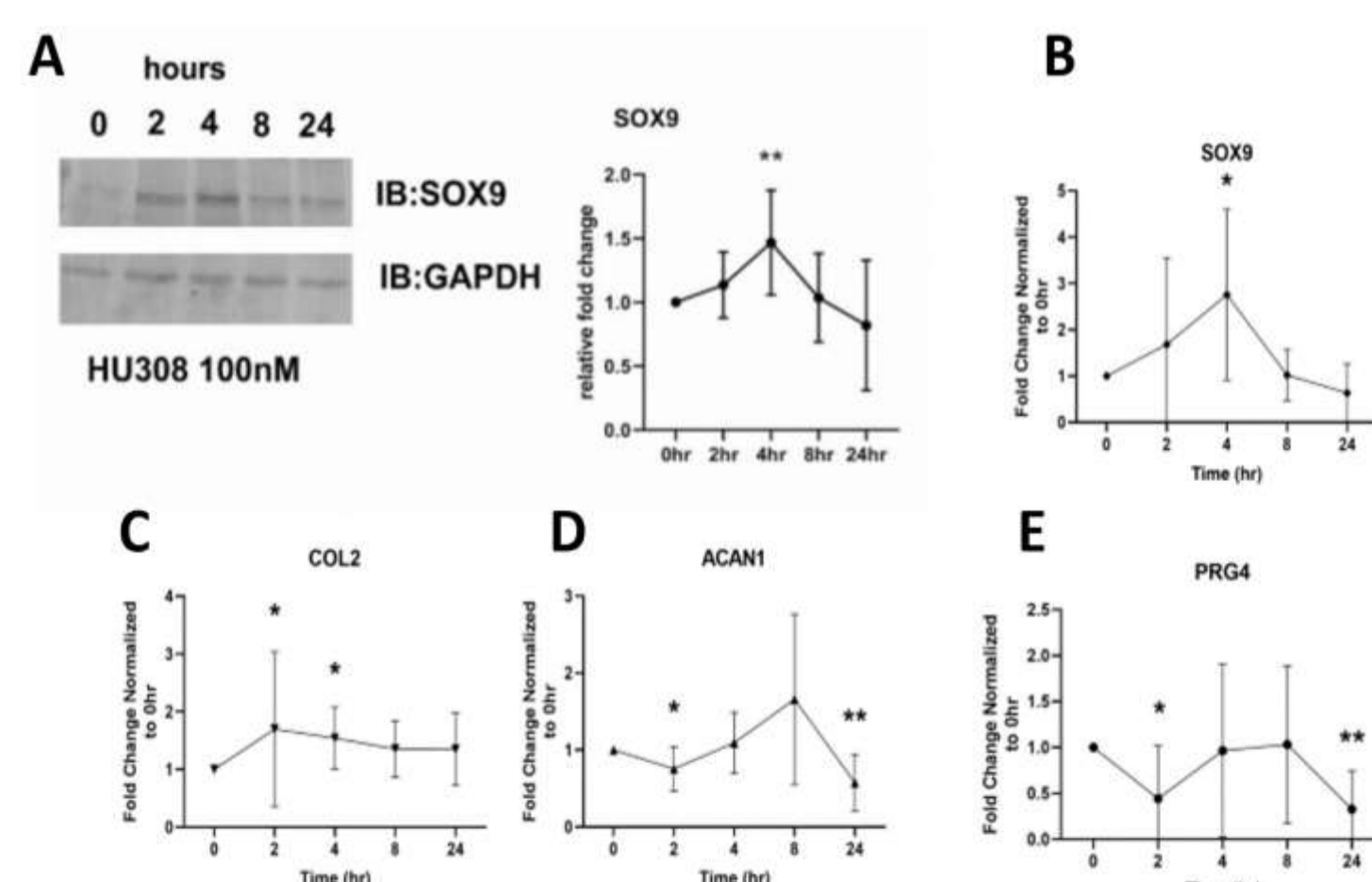
אחוז השינוי במשקל הגוף ביחס לתחילת הניסוי.



טיפול סינטטי ב-HU308 מונע OA המתפתח עם הגיל.
 עכברים זקנים בני 15 ו-20 חודשים קיבלו סדרת טיפולים (2 הזרקות בשבוע, ל 8 הזרקות סה"כ) של HU308 (3mg/kg IP) או Vehicle. טרם ההזרקות ובסופן נבדקו רמות הכאב בעכברים בעזרת PAM (A) ובסיום הניסוי נמדדו רמות חומרת OA בעכברים המבוגרים בגיל 16 (B) ו-21 חודשים (C). (D) מציג תמונות היסטולוגיות מייצגות. עכברים בני 6 חודשים שומשו כביקורת למדידות הכאב.



הפעלת CB2 מראה עלייה בביטוי גנים סחסיים כתלות בריכוז HU308.
 תאי סחוס ממקור אדם הודגרו למשך 48 שעות עם ריכוזים עולים של HU308 (0, 10, 100nM). נמדדו רמות ביטוי הגנים: (A) CNR2; (B) ADAMTS5; (C) MMP13; (D) SOX9; (E) ACAN; (F) COL2. כל ניסוי נורמל לגן הביקורת GAPDH.

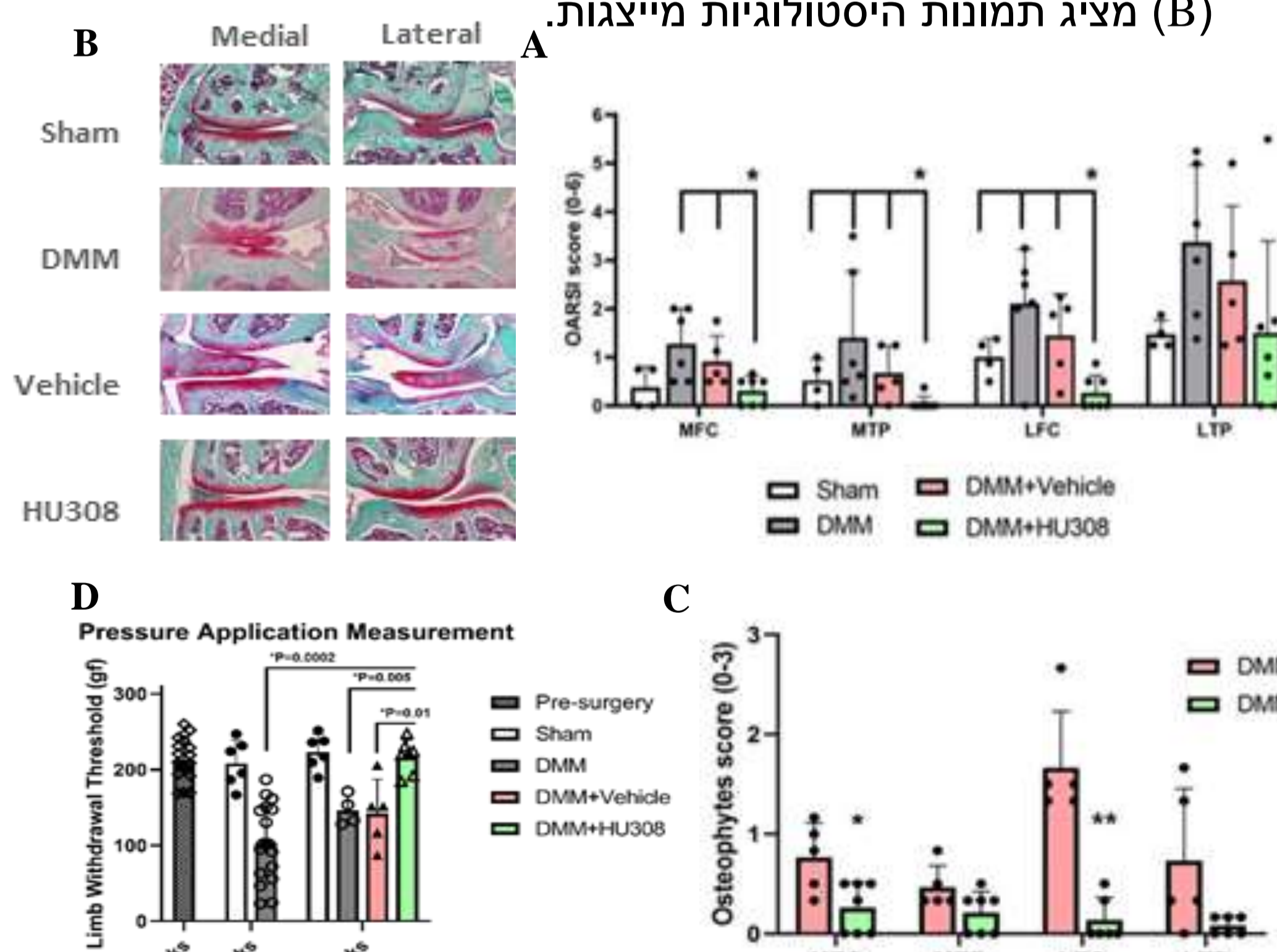


שיטות וחומרים

- qPCR, ChIP, Immunoblot
- אנליזה סטטיסטית שבוצעה באמצעות התוכנת Rstudio, Wilcoxon ובניית גרפים otting - כימות רמות חלבונים ספציפיים בשיטת Western Blot.
- נבדקו החלבונים הבאים: SOX9, pCREB, COL2, ACAN, PRG4. כימות רמות החלבון בוצעו בעזרת התוכנה ImageJ.
- צביעות היסטולוגיות ב- Safranin O, Fast green, לניתוח רמות חומרת התחלואה של המחלה והאוסטאופיטים השתמשנו בשיטת גלאסון בה רמת חומרת המחלה מדורגת מ-0 עד-6. לאוסטאופיטים השתמשנו בשיטת דירוג מ-0 עד-3 והשיטות בהם השתמשנו הן השיטות שמקובל להשתמש בהם.
- מדידת כאב העכברים בדרך באמצעות המכשיר PAM (Pressure Application Measurement) - מכשיר למדידת סף כאב.
- DMM (Destabilization of the Medial Meniscus) - ניתוח להשראת OA.

תוצאות

טיפול מקומי ב-HU308 מונע OA פוסט-טראומטי.
 4 שבועות לאחר ביצוע DMM, קיבלו העכברים סדרת הזרקות תוך מפרקיות של HU308 או Vehicle (8 הזרקות, 2 הזרקות בשבוע במשך 4 שבועות), כמו כן נבדקו עכברי ביקורת DMM ללא טיפול ועכברי Sham. בסוף הניסוי נמדדו רמות (A) חומרת OA, ו-(C) היווצרות אוסטאופיטים. (D) כאב מקומי במפרק נמדד טרם הניתוח, 4 שבועות לאחר הניתוח ו-8 שבועות לאחר הניתוח בסיום הניסוי. (B) מציג תמונות היסטולוגיות מייצגות.



מבוא

Osteoarthritis (OA) היא מחלת פרקים ניוונית כרונית המתאפיינת בהרס מבנה הסחוס והיא מחלת הפרקים השכיחה ביותר בעולם אשר פוגעת בכ-300 מיליון איש ברחבי העולם, מתוכם 10% גברים ו-20% נשים מעל גיל 60.

ככל שהמחלה מתקדמת כך הכאב במפרק גובר והמטופל מוגבל יותר בעשיית פעולות יום יומיות. OA יכולה להתפתח בכל המפרקים בגוף, אך לרוב תתפתח במפרקים הנושאים עומס רב, כמו הברך והאגן. גורמי סיכון אפשריים הם טראומה באזור המפרק או שימוש יתר שלו, גיל מתקדם, השמנת יתר ונטייה תורשתית. הטיפולים הקיימים מתייחסים רק לתסמינים, כשהעיקרי ביניהם הוא הכאב. בין השאר, הטיפולים כוללים משככי כאבים, MRI לחיזוק סיבי הקולגן, ניתוח החלפת מפרק ופיזיותרפיה.

עקב כך השאיפה היא לפתח מוצר שלא יטפל רק בכאב אלא גם ישקם את הברך ואף יחזיר אותה למצבה הבריא - טיפול תרופתי שישיע על מבנה המפרק וישכך כאב Disease Modifying OA Drug (DMOAD).

במחקר שנעשה בשנת 2015, בו הושוו רמות תחלואה של OA בעכברים בני 16-18 חודשים עם מוטציה חסר בגן CB2 (קולטן לאנדוקנבינואידים), נצפו רמות תחלואה גבוהות יותר ב-OA בהשוואה לעכברים מזן הבר (WT), והוסק כי קיים קשר בין CB2 ל-OA. כמו כן, מחקרים קודמים הראו כי הקולטן CB2 מבוטא במפרקים של בני אדם (חולים ובריאים).

מטרות ושאלת המחקר

1. ביסוס וחיזוק הקשר בין המערכת האנדוקנבינואידית והקולטן CB2 לבריאות הסחוס והתקדמות OA.
2. האם האגוניסט הסינתטי HU308 לקולטן CB2 יכול להוות טיפול אפשרות טיפול ל-OA (התפתחות ושליטה בכאב)?
3. באיזה מנגנון CB2 משפיע על שמירת הסחוס?

