


שימוש בפוליפנולים למניעת הדבקת אריתרוציטים בטפילי הדם בבזיה ופלסמודיום
Utilizing polyphenols to prevent invasion of Babesia and Plasmodium falciparum
parasites into erythrocytes

מוגש למדען הראשי של משרד החקלאות

ע"י

אריאל שבתאי מינהל המחקר החקלאי נוה יער
רון דז'יקובסקי האוניברסיטה העברית הדסה עין כרם
יובל גוטליב הפקולטה לחקלאות רחובות

הממצאים בדו"ח זה הינם תוצאות ניסויים.
הניסויים מהווים המלצות לחקלאים : לא!



חתימת החוקר _____

תקציר

קדחות קרצית הנגרמות ע"י טפיל הדם בבזיה גורמות נזק כלכלי עצום לעדרי הבקר לבשר, עם הפסדים שנתיים עצומים. בבבזיוזיס, אריתרוציטים מושמדים על ידי הגורם הפיסיקלי של התרבות הבזיה בתוכם, הגברת הפאגוציטוזה ע"י מקרופגים משופעלים, ייצור של נוגדנים כנגד אריתרוציטים והגברת החדירות של ממברנת האריתרוציטים. לאחרונה דווח כי בקר הנגוע בבזיה ביגמינה מאופיין בשבירות אוסמוטית מוגברת של האריתרוציטים ובנזק חמצוני מוגבר של הממברנות. קיימים בשוק חיסונים חיים מוחלשים כנגד בבזיה המספקים הגנה מפני מחלה חריפה, אולם יש בם סיכונים לחיי הבהמות הנובעים מחוסר הודאות שקיימת לגבי אופי החלשת הטפיל ויכולתו לחזור למצב אלים בבע"ח ו/או בקרציה והעברה של מחלות אחרות יחד עם הבבזיוזיס. בקר הניזון במזון עשיר בפוליפנולים רגיש פחות לתחלואה ותמותה מקדחות קרצית. למדנו כי חל שינוי בתכונות ממברנות האריתרוציטים של בקר זה בהשוואה לבקר הניזון במרעה עשבוני. בין השאר ראינו כי הפוליפנולים נספחים על ממברנות האריתרוציטים, מגבירים את הפוטנציאל האנטיאוקסידטיבי ומורידים את השבירות האוסמוטית שלהם. במחקר היתכנות זה ביקשנו לבחון את ההנחה כי ספיחה של פוליפנולים לממברנות של אריתרוציטים תקטין משמעותית את שיעור ההדבקה שלהם בטפיל הבזיה ובמין הקרוב אליו - פלסמודיום - מחולל המלריה באדם. לשם הוכחת ההיתכנות השתמשנו במערכת הדבקה קיימת של פלסמודיום. קיוונו שלאור התוצאות נצליח בשנת מחקר זאת גם להקים מערכת מקבילה עבור בבזיה, אולם עקב האינטנסיביות של העבודה לא הגענו לכך. בחנו את שיעור ההדבקה של אריתרוציטים

בטפילי *P. falciparum* טרנסגנים המבטאים באופן יציב את הגן luciferase תחת הפרומטר hrp2. טפילים אלה מבטאים באופן קונסטיטוטיבי רמות גבוהות של luciferase. מהתוצאות עולה כי מיצויים של צמחי חורש אכן נספחים לממברנות אריתרוציטים אולם באפיניות משתנה. בנוסף, למיצויים השונים פוטנציאל משתנה לעכב פרוליפרציה של טפילי פלסמודיום. יחד עם זאת, אין התאמה חד-חד ערכית בין אפיניות הספיחה של מיצוי מסוים ויעילות עיכוב הפרוליפרציה שהוא מקנה. מיצוי C נמצא בשלב זה של המחקר כמיצוי היעיל ביותר לעיכוב פלסמודיום עם $IC_{50} = 16\mu M$, ריכוז המתקרב לערך הזמינות הביולוגית של פוליפנולים בפלסמה. תוצאות ניסויים עם תרבית פלסמודיום מסונכרנת עבור כל אחד ממיצויי צמחי החורש רומזות כי מנגנון העיכוב של הפלסמודיום ע"י המיצויים הוא כנראה דרך ספיחתם לממברנה. אנו משערים (1) כי בידוד הפרקציות הפעילות במיצויים הנבחרים תגביר את יעילות העיכוב תוך ותאפשר שימוש במינונים נמוכים יותר (2) למיצויי צמחי חורש יהיה אפקט דומה גם על טפילי בבזיה.

מבוא

קדחות קרצית גורמות נזק כלכלי עצום לעדרי הבקר לבשר, עם הפסדים שנתיים הנאמדים במיליארדי דולרים, ומתוקף כך מסווגות כאחת מהבעיות המרכזיות של ענף זה בארץ ובעולם. על מחוללי קדחות הקרצית העיקריים בישראל נמנים בבזיה בוביס (*Babesia bovis*), בבזיה ביגמינה (*B. bigemina*), תיילריה אנולטה (*Theileria annulata*) ואנפלסמה מרגינלה (*Anaplasma marginale*). מתוכם, פרופורציית אירועי הבבזיוזיס היא הגדולה והמשמעותית ביותר. בבזיוזיס היא אחת מהמחלות המדבקות השכיחות ביותר בבעלי חיים חופשיים והיא זוכה לעניין גובר והולך לא רק בגלל הנזק הכלכלי העצום שהיא גורמת לבקר בכל העולם, אלא גם בשל היותה zoonosis, כלומר מחלה מדבקת מבעלי חיים לאדם. כך למשל, טפיל המכרסמים *B. microti* וטפיל הבקר *B. divergens* אחראים על כמה מאות הדבקות שדווחו עד עתה בבני אדם (Lobo, 2005).

בבזיוזיס היא מחלה הנגרמת על ידי טפילי דם חד-תאיים מהסוג בבזיה השייכים למערכת ה-Apicomplexa ומועברת ע"י קרציות. קיימים בשוק חיסונים חיים מוחלשים כנגד בבזיה המספקים הגנה מפני מחלה חריפה (Bock and De Vos, 2001), אולם יש בהם סיכונים לחיי הבהמות הנובעים מחוסר הודאות שקיימת לגבי אופי החלשת הטפיל ויכולתו לחזור למצב אליס בבע"ח עם טחול תקין ו/או בקרציה (Callow et al., 1979; Timms et al., 1990), ומהעברה אפשרית של מחלות אחרות יחד עם הבבזיוזיס (Roggers et al., 1988). כמו כן קיים הצורך בבקרת איכות נרחבת (Pipano, 1997). למרות ריכוז מאמצים של מספר מעבדות בעולם, חיסון כנגד בבזיוזיס ע"י טפיל מומת עדיין לא קיים (Brown et al., 2006). לאחרונה דווח כי בקר הנגוע בבבזיה ביגמינה מאופיין בשבירות אוסמוטית מוגברת של האריתרוציטים ובנזק חמצוני מוגבר של הממברנות שלהם (Saleh, 2009). עלוות הצומח המעוצה בחורש הים-תיכוני מהווה כ-60% מהדיאטה של פרות בתקופת הזמן שבין מאי וספטמבר (Brosh et al., 2004). שכיחות אירועי התחלואה והתמותה מקדחות קרצית

גבוהה בתקופת זמן זו בקרב בקר הניזון במרעה עשבוני. מכיוון שעלוות צמחי החורש ידועה בתכולה הגבוהה של פוליפנולים, שלהם מיוחסות פעילויות נוגדות חמצון ואנטי פריזיות (Aerts et al., 1999; Molan et al., 2004), ערכנו סקר השוואתי בקרב מגדלי בקר בגליל ובגולן, לבירור אחוז התחלואה והתמותה מקדחות קרצית בעדריהם. תוצאות הסקר הראו כי שיעור התחלואה והתמותה של בקר בעדרי הגולן (מרעה עשבוני) היה גדול באופן מובהק משל עדרי הגליל (מרעה חורש), למרות שהראשונים מקפידים על ממשק חיסונים וריסוסים סדיר, ולמרות העובדה שקיימת זהות גנטית בין עדרי הבקר משני האזורים. בנוסף, אנליזות PCR עם פריימרים ספציפיים לבזיה בוביס או בבזיה ביגמינה שבצענו לפרות נאיביות בשני סוגי המרעה מלמדות, כי אחוז הנגיעות בבזיה נמוך באופן מובהק ($P < 0.01$) בפרות ממרעה החורש למרות נוכחות מספרית דומה של וקטור המחלה, קרצית הבקר, על פרות משני סוגי המרעה.

ההיפותזה שהתעוררה בעקבות המידע הנ"ל הייתה כי הזנה בצמחיית חורש יוצרת עמידות סביבתית מפני בבזיה במסלולים הבאים: **1.** הספחות של פוליפנולים על ממברנות האריתרוציטים – אתר ההדבקה של בבזיה, ויצירה של מחסום פיסיקלי/כימי המקשה על חדירת הטפיל לתוך אריתרוציטים. **2.** הצטברות פוליפנולים, מטבוליטים שלהם או של חומרים אחרים בדם, המפחיתים את שיעור ההדבקה ע"י פגיעה בטפיל. **3.** שילוב בין 2 המסלולים.

הקבלה בין בבזיה ופלסמודיום

מלריה היא אחת משלושת המחלות המדבקות העיקריות הפוגעות בבני האדם כיום. לאחרונה, הקהילה הבינלאומית הכירה במלריה כמרכיב חשוב במטרות הפיתוח של המילניום (Millennium Development Goals) שלה, והשקיעה משאבים ומאמצים לויסות התחלואה. פלסמודיום פלציפרום (*Plasmodium falciparum*) אחראי להדבקות 300-600 מיליון בני אדם במלריה מדי שנה, וגורם לתמותה של 1-3 שלושה מיליון מהם, בעיקר ילדים.

קיימת קירבה פילוגנטית בין הבזיה ופלסמודיום פלציפרום, ודמיון במאפיינים ביולוגיים של השניים. בנוסף, קיימות נקודות דימיון רבות במנגוני ההדבקה והאלימות של שני הטפילים; בשני הטפילים, החדירה לתוך האריתרוציטים של החוליתן מורכבת משלב התחלתי של מגע תא-תא רנדומלי, ואינטראקציות ספציפיות ליגנד-רצפטור (Jack and Ward, 1981). טפילי בבזיה ופלסמודיום משתמשים ברצפטורים משותפים – גליקופורנים A ו-B, כדי לחדור לתוך האריתרוציטים (Lobo, 2005). למרות ההתפתחות של חיסוניות אפקטיבית כנגד המחלה, בעלי חיים ששורדים ומחלימים מההדבקה האקוטית הם בדרך כלל א-סימפטומטיים אך נותרים נגועים באופן תמידי למשך שנים רבות. קשה לאבחן אותם, אולם הם יכולים לשמש כנשאים להעברת המחלה לבעלי חיים נאיביים מבחינה חיסונית.

האלימות של בבזיה ופלסמודיום פלציפרום מיוחסת בעיקר ליכולתם לשנות את שטח פני התא של האריתרוציט ובכך לחמוק ממערכת החיסון של המאחסן. ההתחמקות ממערכת החיסון מושגת בשתי דרכים: (1) אריתרוציטים מודבקים ששטח פני התא שלהם השתנה נצמדים למערך של רצפטורים אנדותליאלים בכלי הדם, כך נמנעים מסילוק על ידי הטחול (2) "וריאציה גנטית" – האנטיגן הטפילי עובר שינויים ובכך נמנע מהיכרות עם מערכת החיסון. הליגנדים האנטיגנים העיקריים להצמדות של הטפיל לאנדותרל של כלי הדם הם PfEMP1 ו-VESA1 בפלסמודיום

ובבזיה, בהתאמה. קיבוע של הטפיל בדופן כלי הדם של איברים שונים כמו המוח מוביל להיפוקסיה רקמתית ולסכנת מוות.

הרציונל לביצוע המחקר:

א. פוליפנולים ואריתרוציטים

קיים קונצנזוס כי עקה חמצונית משחקת תפקיד מרכזי בפתופיסיולוגיה של מחלות שונות באדם ובבקר (Eitam et al., 2010; Halliwell and Gutteridge, 2007). לפיכך, קיימת חשיבות קלינית בצריכה של פוליפנולים נוגדי חמצון כדי להגן מפני נזקי חמצון לתאים ולרקמות (Fraga, 2007). ואכן דווח כי, צריכה של מזונות עשירים פוליפנולים נמצאה באסוציאציה עם שכיחות נמוכה יותר של מחלות לב, סרטן, שבץ איסכמי ומחלות כרוניות אחרות (Joshi et al., 1999; Riboli and Norat, 2003; Verlangieri et al., 1985). הזמינות הביולוגית (בפלסמה) של פוליפנולים אמנם נמוכה (כ- $1-7\mu\text{M}$; Manach et al., 2005), אולם שורה של ממצאים עדכניים מרמזת על פעילות מועילה שלהם, ישירה ועקיפה, בדם ובמערכת העיכול, בהתאמה, ועל העובדה כי מדידה של כמויות נמוכות של פוליפנולים בפלסמה לא משקפת את הכמות הכללית של פוליפנולים המצויה בזרם הדם: 1. אריתרוציטים הומניים יוצרים קומפלקסים יציבים עם פוליפנולים, ויכולים לפעול בסינרגיזם עם נוגדי חמצון נמוך-מולקולריים ועם אנזימים נוגדי חמצון בפלסמה ובאריתרוציטים, לשיפור הפעילות האנטיאוקסידטיבית הכללית של הדם (Koren et al., 2010). 2. מתן פוליפנולים לעגלים יחד עם בליל הפיטום מגביר את הספיגה אל הדם של ויטמין E, נוגד החמצון החשוב ביותר במדיום הליפיד, הידוע בהקטנת השכיחות של מחלות שונות בבקר (Shabtay et al., 2008). 3. מתן פוליפנולים מיון עם ארוחה בשרית מקטין את חמצון הליפידים (MDA assay) בפלסמה (Gorelik et al., 2008). 4. הזנת פרות במרעה חורש, עשיר פוליפנולים, מגבירה את הצטברותם בפלסמה (Eitam and Shabtay, unpublished). הממצאים הנ"ל יכולים לרמז על היכולת של פוליפנולים לנטרל את נזקי החמצון לאריתרוציטים (חמצון ליפידים והמוגלובין, הגברת השבירות האוסמוטית) המזוהים עם גרימת אנמיה כתוצאה מהדבקה בבזיה (Morita et al., 1996; Murase et al., 1996; Otsuka et al., 2001; 2002).

מטרת המחקר: בחינת ההשפעה של ספיחת פוליפנולים לממברנות אריתרוציטים על עיכוב חדירת טפילי הדם פלסמודיום ובבזיה לתוכם.

שיטות וחומרים:

אפיונות הספיחה של מיצויי צמחי החורש השונים לאריתרוציטים נבחנו ע"י שימוש בלומינומטר. התאים (עם או ללא פלסמה) הודגרו עם ריכוזים שונים של מיצוי מכל אחד מששת הצמחים שנבחנו. לאחר שטיפתם הם הודגרו עם קוקטייל המעודד יצירה של רדיקלים חופשיים. האפיונות חושבה כהיסט של יצירת הרדיקלים החופשיים מקריאת הבסיס (ללא תאים מטופלים במיצויים). כדי לבחון *in vitro* את השפעת מיצויי צמחי החורש על גדילת הטפיל פלסמודיום, השתמשנו בקו NF54 של *P. falciparum* המבטא באופן קונסטיטוטיבי רמות גבוהות של לוציפראז, תחת

הבקרה של הפרומטר histidine rich protein II (HrpII). אריתרוציטים מודבקים גודלו ב 5% המטוקריט במדיום RPMI 1640 ובנוכחות 0.25% sodium bicarbonate, 0.5% albumax II, 5% CO₂, 5% O₂. התאים הודגרו בתערובת גזים של 0.1mg/ml gentamicin (Invitrogen) ו 90% N₂ ב 37°C. ביטוי לוציפראז נמדד ליזיס של התאים בעזרת Bright-Glo luciferase assay system (Promega) ובתוספת של נפח שווה של הראגנט. לאחר הליזיס, התאים הועברו בטריפליקטים לפלטות אלייזה עם תחתית שטוחה (Costar brand, NUNC, Denmark) למבחן הלוציפראז, וה Bright-Glo הוסף מיידית לפני הקריאה בקורא פלטות (Flouroskan Ascent, Thermo LabSystems, Finland). כדי לבחון את חיות וגדילת הפרזיטים במהלך הניסוי, הוכנו משטחי דם בצביעת Giemsa. סנכרון הפרזיטים התבצע תוך שימוש בגרדיאנט percoll-sorbitol שהורכב משכבה של 40% percoll-sorbitol ש"הונחה" על תמיסה של 70%. האריתרוציטים הננועים "הונחו" על גבי הגרדיאנט וסורכזו (10000 rpm, 20 min., RT). Late-stage schizont. בודדו משכבת הביניים של הגרדיאנט 40/70%, הועברו למבחנות 50 מ"ל ונשטפו פעמיים במדיום גידול לפני החזרתם לתנאי תרבית של 5% המטוקריט. כדי לבטא את עיכוב הפרוליפרציה של הטפיל ע"י המיצויים השתמשנו בעקום כיוול של פוליפנול מסחרי נקי עם הריאגנט Folin-ciocalteu.

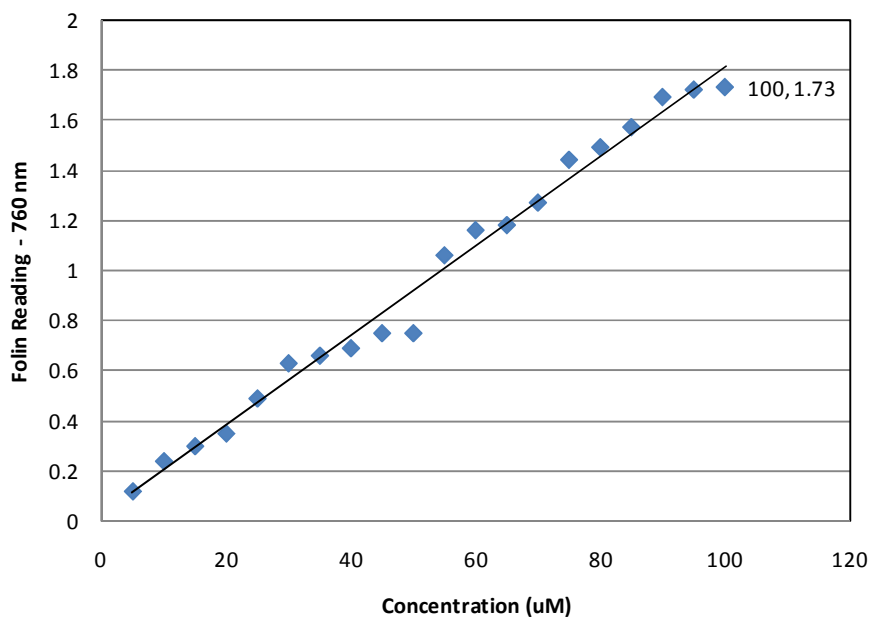
תוצאות ודין:

עקה חמצונית משחקת תפקיד מרכזי בפתופיסיולוגיה של מחלות שונות באדם ובבקר. שורה של ממצאים עדכניים מרמזת על פעילות מועילה שלהם, ישירה ועקיפה, בדם ובמערכת העיכול, בהתאמה, ועל העובדה כי מדידה של כמויות נמוכות של פוליפנולים בפלסמה לא משקפת את הכמות הכללית של פוליפנולים המצויה בזרם הדם. הממצאים הנ"ל יכולים עוד לרמז על היכולת של פוליפנולים ספציפיים לנטרל את נזקי החמצון לאריתרוציטים (חמצון ליפידים והמוגלובין, הגברת השבירות האוסמוטית) המזוהים עם גרימת אנמיה כתוצאה מהדבקה בבזיה ובפלסמודיום, ולשמש כמחסום מפני חדירה של הטפילים לתוכם.

1. קביעת תכולת הפוליפנולים במיצוי צמחי החורש

כדי לקבוע באופן השוואתי את תכולת הפוליפנולים במיצוי צמחי החורש השונים השתמשנו בריאגנט Folin-ciocalteu. בשיטה זו ניתן לבטא את ריכוז הפוליפנולים באקוויוולנטים של חומר ידוע, במקרה זה הפוליפנול EGCG (איור 1). הבחירה במולקולה זאת נובעת מכך שהמסה המולקולארית שלה מצויה באמצע הטווח של פוליפנולים.

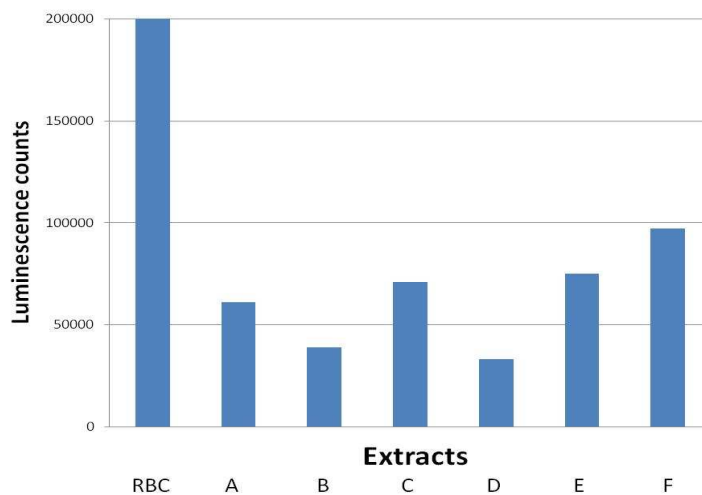
EGCG Equivalent



איור 1: עקום כיוול: ריכוז EGCG כנגד בליעת Folin ב 760 nm.

2. ספיחת מיצויים של צמחי חורש לאריתרוציטים

כדי לבחון את יעילות וספציפיות ספיחת המיצויים הצמחיים אל ממברנות האריתרוציטים השתמשנו בתכונת האנטיאוקסידנטיות של צמחי החורש. לאחר ספיחת המיצויים אל האריתרוציטים השתמשנו בלומינומטר לקביעת פליטת האור (בריאקציה ייחודית, מצומדת ליצירת רדיקלים חופשיים) במערכת. במערכת זאת ככל שעוצמת האור הנפלט נמוכה יותר ביחס לקריאת הבסיס, הפעילות נוגדת החמצון גבוהה יותר. ניתן לראות באיור 2 כי למיצויי הצמחים השונים אפניות ספיחה שונה לאריתרוציטים.

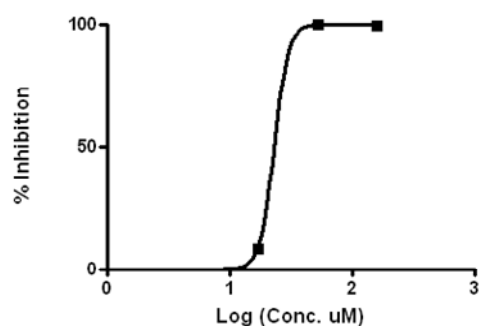
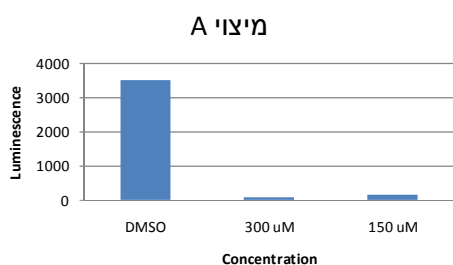


איור 2: מבחן ספיחת מיצויים של צמחי חורש שונים לממברנות אריתרוציטים.

3. עיכוב פרוליפרציה של טפילי פלסמודיום

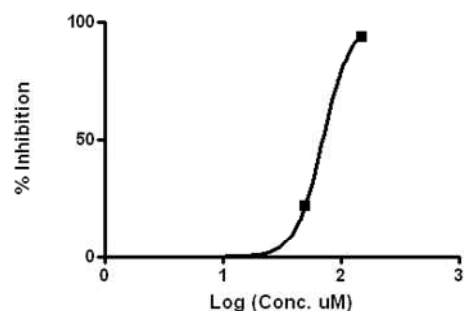
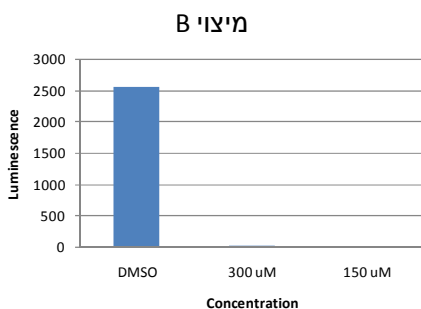
הפוטנציאל של שלושה מיצויים שונים לעכב פרוליפרציה של טפילי פלסמודיום מוצג באיור 3. מתוך עקומות העיכוב חושבו ערכי 50% עיכוב כאקוויולנט של EGCG. מתוך שלושת המיצויים המוצגים באיור 3, מיצוי C היה בעל פעילות העיכוב הפוטנטית ביותר, למרות שספיחתו הכללית לאריתרוציטים הייתה פחות טובה מאשר מיצויים B ו C. יש בכך אולי כדי להניח שבמיצויים השונים יש אפיניות משתנה לרצפטורים על גבי ממברנת האריתרוציט הדרושים להכרה עם הטפיל. בעצם פעילות זאת מונע מיצוי C פרוליפרציה של פלסמודיום בריכוזי פוליפנולים המתקרבים לפיסיולוגיים.

א.



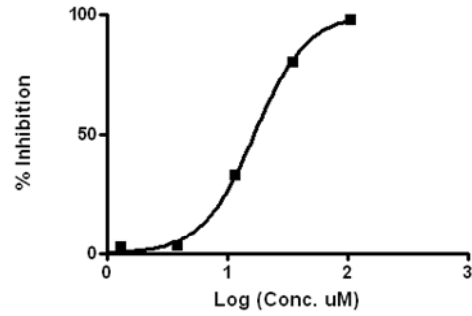
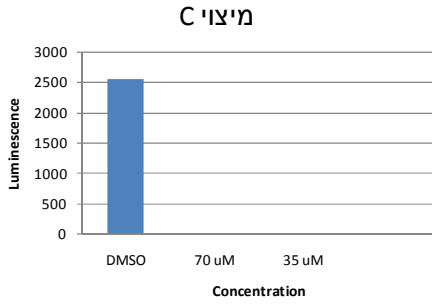
EC50: 23 uM

ב.



EC50: 70 uM

ג.

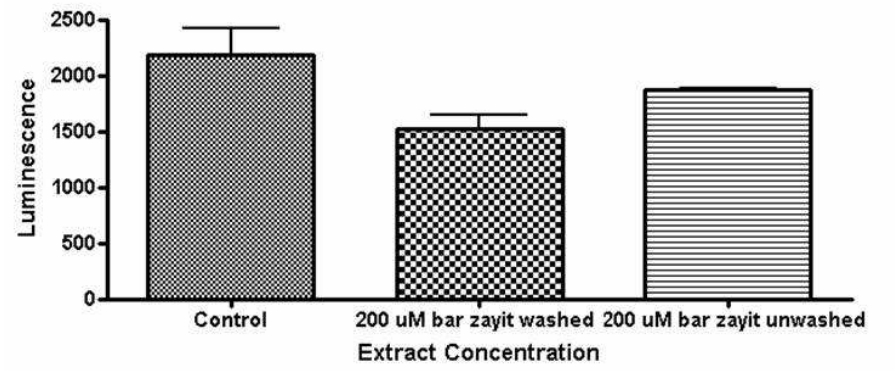


EC50: 16 uM

איור 3: יעילות עיכוב הפרוליפרציה של פלסמודיום ע"י מיצויים מצמחי חורש שונים.

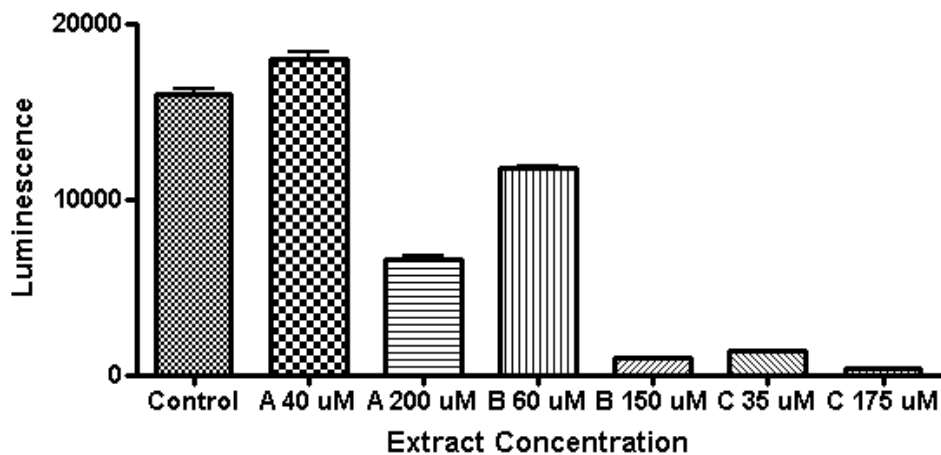
4. ברור ראשוני של מנגנון פעילות מיצוי צמחי החורש

המסלולים האפשריים לעיכוב פרוליפרציה של פלסמודיום, אשר עשויה להיות מאוד רלבנטית גם כאשר מדובר בבזיה, הם הספחות של פוליפנולים על ממברנות האריתרוציטים, הצטברות פוליפנולים, מטבוליטים שלהם או של חומרים אחרים בדם, המפחיתים את שיעור ההדבקה ע"י פגיעה בטפיל, או שילוב בין 2 המסלולים. כדי להתחיל להבין את תקפות ההשערות הנ"ל, עבדנו עם תרבית פלסמודיום מסונכרנת עבור כל אחד ממיצוי צמחי החורש. משמעות העבודה עם תרבית מסונכרנת *synchronized late stage* (parasites) היא שלמרוזואיטים המגיחים מאריתרוציטים שעברו ליזיס יש רק אריתרוציטים שספוחים עליהם פוליפנולים למחזור הדבקה נוסף. בנוסף, התהליך כולל שטיפה של המדיום כך שאין פוליפנולים חופשיים, או חומרים אחרים מהמיצוי, במדיום. באיור 4 מודגם האפקט המיצוי של בר זית. ניתן לראות כי לתרבית השטופה יש יתרון מסוים על התרבית הלא שטופה, מה שעשוי להעיד כי החומרים הפעילים קשורים לממברנה. תופעה מאוד דומה קיימת גם עבור המיצויים האחרים.



איור 4: עיכוב פרוליפרציה של פלסמודיום על ידי מיצוי פוליפנולי מבר זית – בירור מידת ההשפעה של פוליפנולים ספוחים לממברנה.

5. עיכוב השוואתי של פרוליפרציה של פלסמודיום – שיטת מיצוי חלופית בחלק זה של העבודה בקשנו לבדוק האם פילטרציה של המיצויים דרך ממסים אורגניים תשפר את יעילות העיכוב של פלסמודיום. באיור 5 מוצגות התוצאות עבור שלושה מיצויים. מיצוי C נמצא כפוטנטי ביותר גם בשיטת מיצוי. יחד עם זאת, עבור חלק מהמיצויים יעילות העיכוב (IC50) השתפרה בשיטת המיצוי החדשה (תוצאות אינן מוצגות).



איור 5: עיכוב ההדבקה בפלסמודיום פלציפרום של אריתרוציטים "מטופלים" במיצויים של צמחי חורש.

סיכום עם שאלות מנחות

1. מטרת המחקר תוך התייחסות לתוכנית העבודה

בחינת ההשפעה של ספיחת פוליפנולים לממברנות אריתרוציטים על עיכוב חדירת טפילי הדם פלסמודיום ובזיה לתוכם.

2. עיקרי הניסויים והתוצאות

א. מיצויים של צמחי חורש נספחים לממברנות אריתרוציטים אולם באפיניות משתנה התלויה במקור הצמחי של המיצוי.

ב. למיצויים השונים פוטנציאל משתנה לעכב פרוליפרציה של טפילי פלסמודיום.

ג. אין התאמה חד-חד ערכית בין אפיניות הספיחה של מיצוי מסוים ויעילות עיכוב הפרוליפרציה שהוא מקנה.

ד. מתוך שש הצמחים שנבחנו מיצוי מצמח C נמצא בשלב זה של המחקר כמיצוי היעיל ביותר לעיכוב פלסמודיום עם $IC_{50} = 16\mu M$, ריכוז המתקרב לערך הזמינות הביולוגית של פוליפנולים בפלסמה.

ה. תוצאות ניסויים עם תרבית פלסמודיום מסונכרנת עבור כל אחד ממיצויי צמחי החורש רומזות כי מנגנון העיכוב של הפלסמודיום ע"י המיצויים הוא כנראה דרך ספיחתם לממברנה.

3. מסקנות מדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו. האם הושגו מטרת המחקר

לתקופת הדוח ?

לתרכובות המצויות בצמחיית החורש (ככל הנראה פוליפנולים) יכולת ספיחה לממברנות של אריתרוציטים הומאניים. אנו משערים כי יש רמה מסוימת של ספציפיות בקישור של תרכובות אלה לממברנה מאחר וכל הצמחים שנבדקו עשירים בפוליפנולים, אך המיצויים שלהם נקשרו לממברנה באפיניות שונה. יחד עם זאת, אין התאמה מלאה בין אפיניות הספיחה לממברנה ויעילות עיכוב הפרוליפרציה של פלסמודיום. התוצאות שהושגו במהלך שנת המחקר עונות על השערת המחקר ומוסיפות נדבך בדרך להבנת מנגנון הפעולה של עיכוב פרוליפרציה של טפילי דם השייכים למערכת ה-Apicomplexa. מורכבות המחקר והאינטנסיביות שלו אמנם קדמו מאוד את ידיעותינו, אולם לא הספקנו לבחון את מערכת הבזיה.

4. בעיות שנתרו לפתרון ו/או שינויים (טכנולוגיים, שיווקיים ואחרים) שחלו במהלך העבודה ;

התייחסות המשך המחקר לגביהן, האם יושגו מטרת המחקר בתקופה שנתרה לביצוע תוכנית

המחקר ?

א. העמדה של מערכת של בבזיה טרנסגנית כדי לבחון את אותן השאלות שתשובות להן הצגנו בדו"ח הנוכחי.

ב. לבחון צמחי חורש נוספים.

ג. לבצע פרקציונציה של המיצויים ה"מצטיינים" להגברת יעילות העיכוב ושימוש במינונים נמוכים יותר.

ד. העמדת מערכת in vivo בעכברים כדי לבחון את פעילות הפרקציות של המיצויים ה"מצטיינים".

ה. לבחון in vivo את יעילות הטיפול כאשר ניתן במזון בהשוואה להזרקה לשריר או לווריד. הגשנו הצעת מחקר למדען הראשי של משרד החקלאות. רוב המטרות הנ"ל יוכלו להיות מושגות בתקופת מחקר של שלוש שנים נוספות.

5. הפצת הידע שנוצר בתקופת הדו"ח: פרסומים בכתב - ציטוט ביבליוגרפי כמקובל ב פרסום מאמר מדעי; פטנטים - יש לציין שם ומס' פטנט; הרצאות וימי עיון - יש לפרט מקום, תאריך, ציטוט ביבליוגרפי של התקציר כמקובל ב פרסום מאמר מדעי

בשלב זה אנו בודקים אפשרות של רישום פטנט לפני פרסום מדעי.

6. פרסום הדוח: אני ממליץ לפרסם את הדוח: (סמן אחת מהאופציות)

רק בספריות

ללא הגבלה (בספריות ובאינטרנט)

חסוי – לא לפרסם

האם בכוונתך להגיש תוכנית המשך בתום תקופת ה מחקר הנוכחי? **כן**
* יש לענות על שאלה זו רק בדוח שנה ראשונה במחקר שאושר לשנתיים, או בדוח שנה שנייה במחקר לשלוש שנים