

Nem-invazív retina diagnosztikai rendszer fejlesztés központi idegrendszeri kórképek kimutatására nem lineáris lézer pásztázó mikroszkópia segítségével in vivo egér retina modellben

Az orvostudomány sok évszázados, sőt évezredes fejlődése során sok betegségre gyógymódot találtunk, egyes fertőzések szinte teljesen eltűntek, azonban a központi idegrendszert érintő betegségek esetében (Alzheimer-kór, Parkinson-kór, Szklerózis Multiplex, Autizmus) továbbra is kevés ismeret áll a rendelkezésünkre. Ezekre a betegségekre jelenleg semmilyen, vagy csak tüneti, romlást lassító kezelés áll rendelkezésre. Ráadásul a világ minden tájára jellemző növekvő átlagéletkor miatt ezen betegségek társadalmi szerepe egyre jelentősebb. Az új módszerek, illetve vizsgálatok kidolgozásának egyik legfontosabb akadályozó tényezője, hogy az agy igen nehezen, csak fájdalmas műtétekkel, sokszor akár az agyszövet károsodásával járó eljárásokkal vizsgálható. Ilyen módszerek esetében egészséges kontroll csoport bevonása például teljesen lehetetlen. Ezzel szemben a retina egy kivételt jelenthet, mivel az agyszövethez nagyon hasonló szövetből épül fel, tulajdonképpen az agy részének tekinthető, ráadásul kívülről, optikai módszerek felhasználásával is megfigyelhető. Tehát ha olyan eljárásokat tudunk kidolgozni, melyekkel a retina szövetei a szemlencsén keresztül optikailag vizsgálhatók, akkor közelebb juthatunk a központi idegrendszert vizsgáló diagnosztikai eljárásokhoz. Ehhez a szemészetben már számos olyan módszer áll rendelkezésre, amivel a retina és a szemfenék jó optikai minőségben vizsgálható. A projekt során ezen módszereket adaptáljuk saját optikai vizsgálatainkhoz. A vizsgálatok eddigi másik nehézsége, hogy a hagyományos képalkotási technikákkal az agyszövet és a retina homogén szövetet alkot, ezért hagyományosan különböző festési eljárásokat használnak. Ilyen festések azonban egészséges paciensekben szintén nem alkalmazhatók. Szerencsére az idegtudományi képalkotási technológiák legújabb vívmányaival ma már olyan módszerek állnak a rendelkezésre, melyek, különböző speciális képalkotási technikák kombinációjával, lehetővé teszik, hogy az egyes sejt típusokat és elváltozásokat festés nélkül is detektálni tudjuk. A projekt során ezeket a technikákat fogjuk a retina vizsgálatokra adaptálni. A retina speciális elváltozásmintázatai tanuló algoritmusok alkalmazásával erős és széleskörű, beavatkozás nélküli diagnosztikus eszközzé tehetők.

Összesen maximum 390 darab állatot kívánunk felhasználni *in vivo*, 25 darab vad típusút és 365 darab transzgén egeret. Kísérleteink során maximálisan törekszünk a 3R elv használatára. A helyettesítés (replacement) elve alapján az *in vivo* állatkísérleteket megelőzően izolált szemlencséken fogunk *ex vivo* elővizsgálatokat végezni. *Ex vivo* szemlencsék segítségével a lencse optikai bemérését végezzük el, melynek segítségével az egyedi adaptív optikai lencse felépítése határozható meg. A csökkentés (reduction) elve szerint a lehető legnagyobb mértékben szeretnénk csökkenteni a kísérleteink során felhasznált állatok számát. Ha a vizsgálataink során már kevesebb állat felhasználása mellett is elegendő adat gyűlik össze a kísérleteink statisztika elemzéséhez, akkor további állatokat feleslegesen már nem áldozunk fel a méréseinkhez. A finomítás (refinement) elvének megfelelően a felhasznált állataink a lehető legkevesebb fájdalmat érzik a kísérleteink során.

A kísérleti egereket az Európai Unió feltételeknek megfelelő tartási körülmények között tartjuk, ahol az állatok jólétének állandó nyomon követéséről két teljes állású asszisztens gondoskodik, egészségi állapotukat fél évente pedig állatorvos ellenőrzi. Az összes műtétet és vizsgálatot mély altatásban végezzük, így ezek során minimális a fájdalomérzet. A műtét során egy olyan szerkezetet rögzítünk az egér

koponyájához, amivel az egerek stabilan rögzíthetők a vizsgálatok során, de a műtét nem jár a szövetek ennél mélyebb megnyitásával, így a fertőzés esélye minimális. A műtét után az egereket gyulladás és fájdalomcsillapítóval kezeljük. A vizsgálatok során egyéb beavatkozás nem történik, az egerek retináját kívülről a retinán keresztül mérjük különböző képalkotási eljárásokkal. Annak érdekében, hogy a lézer szkennelés esetleges szövet károsító hatásait, és így a vizsgálatok hosszú távú negatív hatásait elkerüljük, a lézer intenzitás határértékeket előzetesen meghatározzuk és betartjuk.