

A kórokozó és a gyulladós sejtek elkülönítése acanthamoeba keratitisben konfokális mikroszkóppal különböző hullámhosszúságú lézerfények alkalmazásakor nyert aufluoreszcencia alapján

A projekt nem szakmai jellegű összefoglalója

A szaruhártya a szemgolyó rostos burkának elülső része. Amennyiben a szaruhártyában gyulladás alakul ki, az érintett területen a szabályos szerkezet felbomlik, a szaruhártya átlátszatlanná válik. Az akut gyulladás lezajlása után keletkezett heg tartós látásromláshoz vezet. A szaruhártya-gyulladás egyik legnehezebben kezelhető fajtájának okozója az

elsősorban kontaktlencse-viselőket megbetegítő acanthamoeba. Az acanthamoeba által okozott szaruhártya-gyulladás felismerése sokszor nehéz, ami erősen rontja a gyógyulási esélyeket, és növeli a látást jelentősen rontó hegesedés kialakulásának kockázatát.

Az acanthamoeba által okozott szaruhártya-gyulladás diagnosztikájához szükség van a kórokozó kimutatására laboratóriumi módszerekkel, illetve az a betegek szaruhártyáját sejtszinten vizsgálni képes ún. konfokális mikroszkóp segítségével. Az utóbbi előnye, hogy azonnali diagnózishoz vezet, azonban sokszor lehetetlen megkülönböztetni a kórokozókat a gyulladós sejtektől. Célunk a jelen vizsgálatunkkal az, hogy állatkísérletek segítségével keressünk olyan egyedi konfokális mikroszkópos jellemzőket, amik megkönnyítik az elkülönítést. Előkísérleteink során megpróbáltuk elérni, hogy ne kelljen állatkísérletet végezni a módszerünk hatékonyságának igazolására. Először tenyésztett acanthamoebákat és vérből tisztított gyulladós sejteket vizsgáltunk meg konfokális mikroszkóp alatt, és azt találtunk, hogy más hullámhosszú fényvel gerjesztve látszanak a kórokozók, és más hullámhosszú fényvel a gyulladós sejtek. Ezután megpróbáltuk megnézni, hogy a szaruhártya szövetei között hogyan ábrázolódnak ezek a sejtek konfokális mikroszkóppal, hiszen mi azt szeretnénk elérni, hogy a betegek szaruhártyájában sikerüljön megtalálni az acanthamoebákat. Ezért megpróbáltuk a tenyésztett acanthamoebákat befecskendezni vágóhídról származó disznó szaruhártyákba, azonban ez nagyon tömött szerkezetű, így ez nem volt kivitelezhető. Acanthamoeba-tenyészetbe behelyezett disznó-szaruhártyadarab 1 hét után tartalmazott beletelepedett acanthamoebákat, azonban ezen idő alatt a szaruhártya szerkezete némileg felbomlott, ezért ebből nem tudhattuk meg, hogy a friss, ép szerkezetű szaruhártyában látszana-e a kórokozó autofluoreszcenciája. Élő állatok felhasználására azért van szükség, mert ahhoz, hogy a betegek szemén zajló folyamatokat modellezni és konfokális mikroszkóppal vizsgálni tudjunk, leginkább hasonló állapotban lévő szaruhártyát kell vizsgálni. Ez csak úgy lehetséges, ha az acanthamoeba-fertőzést követően lezajlik a csak élő szövetben előidézhető gyulladós folyamat.

Maximum 48 db. 2,5-3 kg-os nyulat izomba adott injekció segítségével elaltatjuk és szemükbe érzéstelenítő szemcseppet csepegtetünk. Ennél kevesebb nyúl felhasználásával nem tudnánk az összes szükséges részkísérlet elvégezni úgy, hogy hiteles eredményt kapjunk. Altatott állapotban injektáljuk be a kórokozókat a szaruhártyába, illetve helyezünk be varratot steril gyulladás keltésére. Az állatok egy részét még ezen altatás alatt, másik részüket 3 nappal később túlaltatjuk injekció segítségével. Az eutanázia után a szaruhártyákból egy darabot konfokális mikroszkópos illetve szövettani vizsgálat céljából eltávolítunk. Az állatok túlaltatására azért van szükség, mert a szaruhártyájuk eltávolítása következtében egyrészt nagyon gyenge látás, másrészt másodlagos fertőzések és a szaruhártya kilyukadása fordulhatna elő, melyek jelentős életminőség-romlást okoznának az állatokban.