

Cím: „A szaruhártya-beidegzés károsodásának vizsgálata patkányban és nyúlban a humán szemészetben alkalmazott orvosi beavatkozások, valamint a gyakran előforduló szemsérülések során”

Az emlős szaruhártya a legintenzívebben innervált szövet. A cornea többrétegű el nem szarusodó laphámjának szöveti integritását és működését a trigeminális szomatoszenzoros és a ganglion cervicale superius-ból eredő szimpatikus visceromotoros idegrostok tartják fenn. A corneát innerváló trigeminális primer érzőneuronok számos neuropeptidet tartalmaznak (CGRP, substance P, PACAP), melyek trófikus hatásúak, de például a cornea neurogén gyulladásáért is felelősek. A terminális idegvégződések 20%-a mechano-nociceptor (melyek kizárólag mechanikai ingerekre érzékenyek és éles fájdalomérzetet váltanak ki), 10%-a hideg-érző receptor (a limbus közeli stromában végződő Krause-féle végtestek), míg 70%-a polimodális nociceptor (hőfájdalom, exogén kémiai ingerek, endogén gyulladási mediátorok).

Kísérletes munkánk első évében az alábbi megfigyeléseket tettük:

(1.)

Felnőtt patkányban és nyúlban vizsgáltuk a szaruhártya beidegzését kontroll állatokban. E kísérletsorozattal kívántuk meghatározni azokat a kiinduló kvantitatív és részben már kvalitatív adatokat, amelyekkel összehasonlítva, a különböző típusú szaruhártyasérülések következtében fellépő idegdegeneráció, majd ideg regeneráció mértékét tudjuk meghatározni.

Felnőtt patkányban a retrográd fluoreszcens jelölés átlagosan 824 jelölt idegsejtet eredményezett a ganglion trigeminale ophthalmicus (V/1) részében, függetlenül attól, hogy a cornea külső felszínéről vagy az elülső szemcsarnokból, illetve hogy True Blue-val (TB; a citoplazmát festi meg és kék színben fluoreszkál) vagy Diamidino Yellow-val (DY; a sejtmagot festi meg és sárga színben fluoreszkál) történt a jelölés. A szaruhártya két oldaláról történő együttes jelölés minden jelölt ganglionsejt esetében kettős jelölődést eredményezett. Ez arra utal, hogy a patkány szaruhártyáját beidegző neuronok mindkét fluoreszcens festékkel, a szaruhártya bármelyik oldaláról teljes mértékben megjelölhetők. Az alkalmazott retrográd fluoreszcens festékek segítségével tehát az összes, a corneát beidegző idegsejt megjelölhető, amely számosságát tekintve messze többnek bizonyult, mint más, korábbi jelölések: *De Felipe és Belmonte* retrográd Fluorogold jelöléssel patkány corneából mindössze 250 ganglionsejtet tudott jelölni átlagosan (Eur J Neurosci 1999; 11(3): 899-906).

A TB-val, illetve DY-val jelölt ganglionsejteket méret szerint két populációba tudtuk osztani:
a., nagy méretű, 40 µm-nél nagyobb átmérőjű sejtek (az összes jelölt sejt 8%-a);
b., kis méretű, 40 µm-nél kisebb átmérőjű sejtek (az összes jelölt sejt 92%-a).

Felnőtt nyúlban a szaruhártya külső oldaláról történt retrográd TB-jelölés átlagosan 2002 jelölt idegsejtet eredményezett a ganglion trigeminale ophthalmicus (V/1) részében.

A TB-val jelölt ganglionsejteket méret szerint két populációba tudtuk osztani:
a., nagy méretű, 50 µm-nél nagyobb átmérőjű sejtek (az összes jelölt sejt 17%-a);
b., kis méretű, 50 µm-nél kisebb átmérőjű sejtek (az összes jelölt sejt 83%-a).

Retrográd fluoreszcens kettős jelölés (TB a szaruhártya külső oldalán, DY az elülső szemcsarnokban) esetén a jelölődött ganglionsejtek 38%-a mutatott kettős jelölődést — eltérő arányban a kis és nagy méretű corneális érzőneuronok. A nagy méretű ganglionsejtek 79%-a, míg a kis méretű ganglionsejteknek csak 26%-a volt kettősen jelölt. Ez arra utal, hogy a nyúl szaruhártyáját nem tudja teljes mértékben átjárni egyik fluoreszcens jelölő anyag sem, viszont a nagyobb méretű ganglionsejtek eredményeink alapján valószínűsíthetően nagyobb arborizációval rendelkeznek a corneában, mint a kisebb méretű ganglionsejtek, ezért könnyebben eléri és felveszi a szaruhártya két oldaláról diffundáló jelölőanyagokat.

(2.)

A vitreoretinalis sebészet több mint négy évtizede alkalmazza a szilikonolajat endotamponádként a komplikált látóhártya-leválások kezelésében. A műtét során az üvegtest eltávolítása és a leválás okaként szereplő retinaszakadás lézeres kezelését követően a szemet szilikonolajjal vagy gázzal töltik fel. A szem szilikonnal szembeni tűrőképességét számos állatkísérletben és humán morfológiai tanulmányban vizsgálták. Számos tanulmány rámutat arra, hogy a szilikon közvetlenül infiltrálja a szem különböző szöveteit és a szilikonolajjal töltött szemekben nagyobb a szürkehályog, a zöldhályog és a szaruhártya-elfajulás (keratopathia) kialakulásának kockázata.

Első kísérletünkben felnőtt nyulak szemébe vitrektómiát követően szilikonolajat injektáltunk, majd egy éves túlélést követően vizsgáltuk a szem szöveteinek változását. Különösen a retina és a látóideg tekintetében tapasztaltunk drasztikus elváltozásokat, melyeket egy közleményben rögtön le is közöltünk (Papp A; B. Kiss E; Tímár Ö; Szabó E; Berecki Á; Tóth J; **Páli J** (2007) *Long-term exposure of the rabbit eye to silicone oil causes optic nerve atrophy*; Brain Research Bulletin 74: 130-133).

Eredményeink:

- Meghatároztuk a nyúl látóidegében található velőshüvelyű látóidegrostok pontos számát, ami átlagosan 418.313-nak bizonyult.
- A bulbusok szilikonolajjal való feltöltését követően, egy éves túlélés után ez a szám átlagosan 45.620-ra csökkent (11%), ami együtt járt a látóidegek keresztmetszeti területének mintegy 60%-os csökkenésével.
- A látóidegben levő gliasejtek száma a bulbus mögötti területen és a látóideg középső részén a kontroll és a műtött oldalon egyforma volt, míg a chiasma opticum előtti szakaszon a szilikonolajjal kezelt szem oldalán mintegy 28%-kal magasabb.

A szilikonolajnak a retinára és a látóidegre kifejtett hatása lehet a magyarázata annak, hogy bár sok esetben anatómiailag sikeres a retinaleválást követő endotamponád, mégis a legtöbb esetben szerény funkció-visszatérés figyelhető csak meg.

Az elmúlt években kerültek forgalomba az ún. fluorinált szilikonolajok, melyek sűrűsége nagyobb az eddig használt szilikonolajokénál. Eredményeink remélhetően hozzájárulnak majd ahhoz, hogy a szilikonolajok okozta káros mellékhatások a további fejlesztések és humán terápia során csökkenthetőek legyenek, és így nagyobb funkció-visszatérést eredményezzen használatuk a retinaleválás kezelését követően.

2006-2008 közötti időszak:

Az első kutatási évet követően saját szemműtétem miatt pályázatom időleges felfüggesztését kérelmeztem 2006-ban, amihez az Élettudományi Kollégium és Gilyén Eleménné igazgató asszony hozzájárult. Mire azonban a felfüggesztés időtartama véget ér, megszűnt akkori munkahelyem az Országos Baleseti és Sürgősségi Intézet Tudományos és Kísérleti Osztálya. Ekkor próbáltam az OTKA kutatási támogatási szerződést egy magán kutatócéghez (Beike Magyarország Biotechnológiai Kft.) átvinni. Ezt az OTKA engedélyezte, de végül a cégben a többségi tulajdonosok megváltoztatták döntésüket, és nem járultak ehhez hozzá. Az újabb esetleges szerződésmódosításhoz már (érthető módon) az OTKA nem járult hozzá, így pályázatom idő előtti lezárásra került 2009. januárjában.

A korábbi fel nem használt, illetve zárolt támogatási összegek az OTKA részére visszautalásra kerültek, illetve egy része eleve nem is került kiutalásra.