**Οι νέες τεχνικές καλλιέργειας αμφιβληστροειδούς σε μοντέλα πειραματόζωων χοίρων, παρέχουν βελτιωμένη διατήρηση των φωτοϋποδοχέων.**

Wagner, N., Reinehr, S., Gammel, M. R., Greulich, A., Hurst, J., Dick, H. B., Schnichels, S., & Joachim, S. C. (2020). Novel Porcine Retina Cultivation Techniques Provide Improved Photoreceptor Preservation. *Frontiers in neuroscience*, *14*, 556700. https://doi.org/10.3389/fnins.2020.556700

Η ηλικιακή εκφύλιση της ωχράς κηλίδας (AMD) είναι η κύρια αιτία τύφλωσης στις βιομηχανικές χώρες μεταξύ ατόμων άνω των 60 ετών. Έχει πολλαπλούς ενεργοποιητές και παράγοντες κινδύνου, αλλά παρά τις έντονες ερευνητικές προσπάθειες, οι μηχανισμοί παθογένεσής της προς το παρόν δεν είναι πλήρως κατανοητοί. Η παθογένεση AMD χαρακτηρίζεται από την εμφάνιση υγρών κηλιδων drusen στη μεμβράνη του Bruch με επέκταση στη στιβάδα του μελάχρώου επιθηλιου και σε πλησιέστερα κύτταρα, όπως φωτοϋποδοχείς. Αυτή η μελέτη διερευνά τη δυναμικη νέων τεχνικών καλλιέργειας κυττάρων αμφιβλ/δους για τη διατήρηση των φωτοϋποδοχέων με αξιοποίηση εμφυτεύματων αμφιβλ/δους, ωστέ να αποκτήσουν καλύτερες γνώσεις σχετικά με την παθολογία της ΣΗΕΩ.

Τα εμφυτεύματα στους αμφιβληστροειδεις χοίρων πειραματιζώων καλλιεργήθηκαν για 4 και 8 ημέρες χρησιμοποιώντας τρεις διαφορετικές τεχνικές εμφύτευσης, δηλαδή, υπό έλεγχο (φωτοϋποδοχείς στραμμένα προς τα κάτω, αγγίζοντας το φίλτρο), φίλτρο (φωτοϋποδοχείς στραμμέναους προς τα πάνω, δείγμα με χρήση φίλτρου) και λαβίδες (φωτοϋποδοχείς στραμμένα προς τα πάνω, δείγμα με λαβίδα). Η τομογραφία οπτικής συνοχής αποκάλυψε ότι η μέθοδος τσιμπιδιού είχε την καλύτερη ικανότητα να περιορίσει την αραίωση των εμφυτευμάτων αμφιβληστροειδούς. Και οι δύο νέες μέθοδοι παρουσίασαν πλεονεκτήματα στη διατήρηση του πάχους του εξωτερικού τμήματος του εμφυτεύματα. Επιπλέον, η αξιολόγηση του ανοσοφθορισμού αποκάλυψε καλύτερη συντήρηση των κυττάρων με πρωτεινη οψίνης και της έντασης του σήματος ροδοψίνης και στις δύο νέες μεθόδους, ειδικά στη μέθοδο των λαβίδων.

Επιπλέον, η ανάλυση με τη μεθοδο RT-qPCR κατέδειξε μια αύξηση της έκφρασης της οψθνης και της ροδοψινης σε δείγματα εμφυτευματων με τη τεχνική της λαβιδας στις 8 ημέρες. Ο αριθμος της πρωτείνης αμακρίνης και των διπολικών κυττάρων δεν μεταβλήθηκαν την ημέρα 4 της καλλιέργειας, ενώ η καλλιέργεια έως τις 8 ημέρες οδήγησε σε μειωμένο πληθυσμό διπολικών κυττάρων.

Στις 4 ημέρες καλλιέργειας, το mRNA της πρωτεινής καλρετινινης ρυθμίστηκε ανοδικά σε δείγματα εμφυτευμάτων με τη τεχνική του φίλτρου, αλλά η έκφραση της πρωτεϊνικής κινάσης Ca (ασβεστίου) ρυθμίστηκε προς τα κάτω. Τα γαγγλικά κύτταρα του του αμφιβληστροειδούς μειώθηκαν και στις δύο νέες τεχνικές λόγω της άμεσης φυσικής επαφής με το ένθετο. Είναι αξιοσημείωτο ότι δεν ανιχνεύθηκε διαφορά στην έκφραση του TUBB3 mRNA μεταξύ των τεχνικών.

Παρ 'όλα αυτά, και οι δύο νέες μέθοδοι παρουσίασαν βελτιωμένη συντήρηση των φωτοϋποδοχέων κυττάρων. Συμπερασματικά, η τεχνική των λαβίδων ήταν η πιο ελπιδοφόρα. Λόγω της υψηλής ομοιότητας του αμφιβληστροειδούς στον χοίρο και στον ανθρώπο, η τεχνική αυτή παρέχει μια λογική εναλλακτική λύση σε μοντέλα πειραματοζωων ποντικιων στα εργαστηρια.

Κατά συνέπεια, ένα προσαρμοσμένο σύστημα καλλιέργειας που βασίζεται στα τρέχοντα ευρήματα μπορεί να χρησιμεύσει ως εκτός εργαστηρίου μοντέλο κατάλληλο για την ανάλυση των μηχανισμών παθογένεσης της ΣΕΗΩ και την αναζήτηση νέων θεραπευτικών προσεγγίσεων.

**Για την Πανελλήνια Ένωση Αμφιβληστροειδοπαθών,**

**Απόδοση – Επιμέλεια κειμένου,**

**Στρατής Χατζηχαραλάμπους.**