

Levél cím: I. sz. Belgyógyászati Klinika, 6701 Szeged, Korányi fasor 8-10.

A kutatási terv közérdekű adatainak kivonata beavatkozással járó vizsgálatok¹ számára²

A kitöltött nyomtatvány adatait az etikai véleményt adó Regionális Kutatásetikai Bizottságnak korlátozás nélkül hozzáférhetővé kell tennie bárki számára.

A kutatás-fejlesztési tevékenység során létrejövő szellemi javakat Magyarországon több törvény is védi.³ Ugyanakkor a Helsinki Nyilatkozat 16. pontja, az Ovideoi Egyezményt hatályba léptető 2002. évi VI. törvény, és az orvosi kutatások végzéséről szóló miniszteri rendelet az emberen végzett orvosi kutatások etikus folytatása érdekében megkövetelik az etikai bizottságoktól, hogy a közvéleményt tájékoztassák az általuk véleményezett kutatások fontosabb adatairól. A közvélemény tájékoztatásának célja: az etikai bizottság munkájának nyilvánossága, a kutatások alanyai alapvető emberi jogainak biztosítása.

A 2007. III. 10-től hatályos 1/2007. (I. 24.) EüM rendelettel módosított 23/2002. (V. 9.) EüM rendelet szerint az alább felsorolt, a kutatási tervben megtalálható adatok közérdekű adatok, amelyeket bárki korlátozás nélkül megismerhet. Kérjük, hogy a szellemi alkotások oltalmának védelmét is szem előtt tartva, a nem nyilvános kutatási terv alapján töltsék ki ezt a táblázatot. A közvélemény és az alanyok tisztességes, lényegre törő tájékoztatását tartsa elsődleges szempontnak. A kutatási terv szakmai-etikai jóváhagyása után, az etikai bizottság a saját honlapján minden érdeklődő számára közzé teheti az itt megadott közérdekű adatokat. **Szakmai vagy szolgálati titoknak minősülő, illetve a kutatás érdekeit veszélyeztető adatot ne közöljön!**

A téma megnevezése (nem kell, hogy megegyezzen a kutatási protokoll címével)

Az inzulin és az aromataz bénítók hatásainak tanulmányozása humán granulóza sejtek aromataz aktivitására (szteroid hormontermelés) és aromataz expressziójára.

A kérelem iktatási száma: 49/2018-SZTE

A kérelmező neve, munkaköre és beosztása: Dr. Földesi Imre tanszékvezető egyetemi docens

1. A kutatás célja, indokoltsága és várható eredményének összefoglalása

A kutatás, melynek korábbi etikai engedélye még 1998-ból származik (52/1998) azt a vizsgálat sorozatot hivatott folytatni, amely még a Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikán kezdődött, amikor a kutatásvezető még az ottani laboratórium vezetője volt.

Jelen kutatásunk konkrét célja az inzulin rezisztencia és az ennek következtében létrejövő hyperinsulinaemiás állapot hatásainak vizsgálata az in vitro sejt kultúra modellen. Korábbi adataink azt mutatták, hogy az inzulin, az inzulin rezisztenciának megfelelő

¹ A 23/2002. (V. 9.) számú EüM rendelet 20/B. § g) és h) pontjai szerint:

g.) *beavatkozással járó vizsgálat (interventional trial)*: fizikai beavatkozással járó orvostudományi kutatás és minden olyan beavatkozással járó kutatás, amely a vizsgálati alany lelki egészségére nézve kockázattal jár

² Ez a nyomtatvány a 23/2002. (V. 9.) számú EüM rendelet 8. § (3) és (4) bekezdéseinek 2008. szeptember 1-jén hatályos szövege alapján készült.

³ A találmányok szabadalmi oltalmáról szóló 1995. évi XXXIII. törvény, a szerzői jogról szóló 1999. évi LXXVI. törvény.

koncentráció tartományban gátolta a sejtek ösztadiol termelését, ami ellentmondott az irodalmi adatoknak. Kísérleteink során olyan körülményeket teremtettünk, ami indirekt módon bizonyította, hogy az insulin nem okozott sejtproliferációt. Ezt a munkánkat még 2007-ben az ESHRE (European Society of Human Reproduction and Embriology) kongresszuson ePoster formájában (467. ePoster) bemutattuk. Feltételezésünk szerint a korábbi, a mi adatainkkal ellentétes stimuláló hatás hátterében a jóval magasabb koncentrációban alkalmazott insulin porliferációs hatását sejtjük, amelyet már az IGF-II receptorokon keresztül fejthetett ki. Ahhoz azonban, hogy ezt az eredményünket közlemény formájában is publikálni lehessen szükséges igazolni, hogy a mi kísérleti körülményeink között az insulin nem fejt ki sejtproliferációs hatást a granulosa sejtekre, miközben gátolja az ösztrogéntermelést (ilyen technika pl., az in situ proliferációs assay, immunhisztokémia, western blot technika, MTT assay). További lehetőség ezen a területen az insulin rezisztencia illetve 2-es típusú diabetes kezelésére használt metformin, közvetlen hatásainak vizsgálata az általunk korábban kidolgozott sejt kultúra modellen. Az aromatáz bénítókat ma már széles körben használják az in vitro fertilizációban, hormondependens emlődaganatok kezelésében, de még férfi növekedési zavar esetén is, kiegészítő kezelésként. Az aromatáz bénítók széles köre elérhetővé vált az elmúlt években tudományos kutatás céljára, amelyek között olyan is beszerezhető, amelyik irreverzibilisen gátolja az enzim működését. Az aromatáz bénítók ma már valós alternatíváját jelentik az kontrollált ovarialis stimuláció során, az ösztrogén szint csökkentésére (közvetve az FSH koncentráció növelésére) alkalmazott clomifén citrát terápiának. Napjainkban a leginkább az ösztrogén hatás felfüggesztésére használják ezeket a gyógyszereket ösztrogénfüggő emlődaganat kezelésére. Mivel ez egy teljesen új irány és alternatíva az ilyen daganatok kezelésében, egyre újabb származékok szintézisét farmakokinetikáját írják le az irodalomban. Ezeknek a szereknek a közvetlen hatásait az ováriumok szteroidogén sejtjeire még nem vizsgálták, az ilyen irányú kísérletek újabb információkkal szolgálhat hatásmechanizmusokról. Emellett az aromatáz enzim teljes, irreverzibilis blokkolását követően (létezik ilyen aromatáz bénító is), vizsgálhatóvá válik, hogy melyek azok a vegyületek, hormonok, hatások, amelyek lehetővé teszik az aromatase új, de novo szintézisét mRNS illetve a tényleges fehérjeszintézis szintjén (western blot analízis).

2. A kutatás tudományos megalapozottságát, indokoltságát megalapozó irodalmi hivatkozások megjelölése (elegendő a kutatás irányát jelző néhány irodalmi hivatkozás)

Badawy A, Elnashar A, Totongy M. Clomiphene citrate or aromatase inhibitors for superovulation in women with unexplained infertility undergoing intrauterine insemination: a prospective randomized trial. *Fertility and Sterility* 92: 1355-0359. (2009)

Ebrahimi M, Akbari-Asbagh F, Ghalandar-Attar M. Letrozole+GnRH antagonists stimulation protocol in poor ovarian responders undergoing intracytoplasmic sperm injection cycles: an RCT. *International Journal of Reproductive Biomedicine* 15: 101-108. (2017)

Erickson GF, Magoffin DA, Cragun JR, et al. The effects of insulin and insulin-like growth factors-I and -II on estradiol production by granulosa cells of polycystic ovaries. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 70:894-902. (1990)

Fedorcsák P, Storeng R, Dale PO, et al. Impaired insulin action on granulosa-lutein cells

in women with polycystic ovary syndrome and insulin resistance. *Gynecological Endocrinology* 14:327-36. (2000)

Ferreira A, Palha A, Correia L, et al. Treatment adaptation and relative effectiveness of aromatase inhibitors compared to tamoxifen in early breast cancer: a multi-institutional observational study *The Breast* 37: 107-113. (2018)

Földesi I, Nádasi T, Kozinszky Z, et al. A. Insulin directly inhibits the basal and gonadotrophin-induced estradiol production of human granulosa cells in vitro. 23rd Annual Meeting of ESHRE, 1-4 July 2007 Lyon, France

Kang H, Xiao X, Huang C, et al. Potent aromatase inhibitors and molecular mechanism of inhibitory action. *European Journal of Medical Chemistry* 143: 426-437. (2018)

Lossl K, Andersen AN, Loft A, et al. Androgen priming using aromatase inhibitor and hCG during early-follicular-phase GnRH antagonist down-regulation in modified antagonist protocols. *Human Reproduction* 21: 2593-2600. (2006)

Louhio H, Hovatta O, Sjöberg J, et al. The effects of insulin and insulin-like growth factors I and II on human ovarian follicles in long-term culture. *Molecular Human Reproduction* 6: 694-698. (2000)

Moller DE, Yokota A, Caro JF, et al. Tissue-specific expression of two alternatively spliced insulin receptor mRNAs in man. *Molecular Endocrinology* 3:1263-1269. (1989)

Nash ChM, Philip L, Shah P, et al. Letrozole pre-treatment to medical termination of pregnancy: a systematic review. *Contraception* doi: 10.1016/j.contraception.2017.11.003 (2017)

Phy JL, Conover CA, Abbott DH, et al. Insulin and messenger ribonucleic acid expression of insulin receptor isoforms in ovarian follicles from nonhirsute ovulatory women and polycystic ovary syndrome patients. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 89: 3561-3566. (2004)

Pingaew R, Mandi P, Prachayasittikul V, et al. Synthesis, molecular docking, and QSAR study of sulfonamide-based indoles as aromatase inhibitors. *European Journal of Medical Chemistry* 143: 1604-1615. (2018)

Polyzos N, Tsappi M, Mauri D, et al. Aromatase inhibitors for infertility in polycystic ovary syndrome. The beginning or the end of a new era? *Fertility and Sterility* 89. 2 February 2008 (Editor's Corner)

Tatsumi T, Jwa SC, Kuwahara A, et al. Pregnancy and neonatal outcomes following letrozole in frozen-thawed single embryo transfer cycles. *Human Reproduction* 32: 1244-1248. (2017)

Willis D, Franks S. Insulin action on human granulosa cells from normal and polycystic ovaries is mediated by insulin receptors and not the type-I insulin-like growth factor receptor. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 80:3788-3790. (1995)

3. A résztvevők toborzásának, beválasztásának, kizárásának rendszere

A Kaáli Intézetben in vitro fertilizációs céllal kezelt páciensek folliculus folyadékát szeretnénk felhasználni. Mivel a stimulációs kezelések egyénre szabottak arra szeretnénk törekedni, hogy ismert legyen a kezelése annak a páciensnek, akinek a mintáját

felhasználjuk. Nem mindegy ugyanis, hogy GnRH analogot vagy antagonistát kap, rekombináns vagy tisztított gonadotropint kap, kap-e előzetesen clomiphent vagy esetleg aromatáz bénítót, illetve a kezelés hatására hány petesejt indult fejlődésnek illetve hányat sikerült a folliculus punctio során eltávolítani. Fontos azonban megjegyezni, hogy a tervezet vizsgálat semmilyen módon nem fogja befolyásolni az egyénre szabott kezelést és a beteget érintő beavatkozásokat. Mi csupán a kezelés során fennmaradó folliculus folyadékot szeretnénk felhasználni (ebből szeretnénk izolálni granulosa sejteket), ami a petesejtek elkülönítését követően melléktermékként (gyakorlatilag hulladékként) megmarad.

4. A kutatásba bevinni kívánt résztvevők száma (összesen és kutatóhelyenként), neme, életkora

Az alkalmazott eredeti, az in vitro fertilizációval összefüggő kezelés prokolljához alkalmazkodva gyűjtünk bizonyos típusú kezelést követően sejteket (folliculus folyadékot). A tudományos vizsgálatok tervezésével maximálisan alkalmazkodunk az eredeti, in vitro fertilizációhoz szükséges kezelésekhöz. Az 5 éves vizsgálati periódusban a beválogatás elsődleges szempontja az alkalmazott in vivo stimulációs protokoll lesz. A bevont résztvevők számát az aktuális in vitro kísérletek száma és az in vitro (sejtkultúra) kezelési protokoll valamint az egyes kísérletekhez szükséges sejtszám fogja meghatározni.

5. A kutatás módszerei

In vitro sejtkultúra, immun-analitikai módszerek (ELISA, hormonmérések), western blot analízis (aromatáz fehérje expresszió), mRNS génexpresszió (aromatáz mRMS vizsgálat), in situ proliferációs assay (granulosa sejt proliferáció vizsgálata), MTT assay (granulosa sejt proliferáció vizsgálata)

6. A kedvezőtlen események és a súlyos nemkívánatos események lehetősége, a bekövetkezésük esetén a követendő eljárások

Nem releváns, a vizsgálati protokollal összefüggésben nem várható semmilyen nemkívánatos rendkívüli esemény.

7. A résztvevők személyes és egészségügyi adatainak kezelésével kapcsolatos intézkedések (az 1992. évi LXIII. törvény alapján)

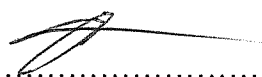
A mintákat név nélkül illetve alapvetően számunkra azonosíthatatlan formában kívánjuk gyűjteni, maximum a születési évet, illetve a kezeléshez használt gyógyszereket (a felhasznált mennyiségek ismerete nélkül), érett petesejtek számát tervezzük regisztrálni. A kapott folliculus folyadék mintákat sorszámmal és évszámmal látjuk el (pl. 1/2018) és egy naptárban vezetjük a gyűjtés napját, aminek a felhasználás szempontjából illetve a sejtkultúra napjainak követése szempontjából lesz csak jelentősége.

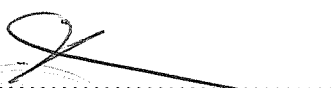
8. A kutatás során nyert adatok statisztikai feldolgozásának módszere

A kísérletek jellege alapján egy-szemponos vagy két-szemponos ANOVA, t-próbák, regressziós analízis, korrelációs vizsgálatok.

Nyilatkozom, hogy a fenti adatok nem sértik a kutatásnak a szellemi alkotások védelmére vonatkozó érdekeit és nem tartalmaznak szakmai- vagy szolgálati titkot, illetve a kutatás érdekeit veszélyeztető adatot. A fenti adatokat bárki, korlátozás nélkül megismerheti. Tudomásul veszem, hogy jóváhagyás után az RKEB a közérdekű adatokat a honlapján közzé teheti.

Szeged, 2018. február hó 23. nap


.....
kérelmező neve és aláírása


.....
kérelmező/intézetvezető neve és aláírása

