

A kutatási terv közérdekű adatainak kivonata beavatkozással járó vizsgálatok¹ számára²

A kitöltött nyomtatvány adatait az etikai véleményt adó Regionális Kutatás-Értékelési 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)

Alzheimer-kór specifikus biomarkerek azonosítása gerincvelői folyadékából és vérből

A kérelem iktatási száma: 54/2015-SZTE

A kérelmező neve, munkaköre és beosztása: Dr. Kálmán János, egyetemi tanár

1. A kutatás célja, indoklottsága és várható eredményének összefoglalása

Az Alzheimer-kórra (AK) jellemző patológiai elváltozások (az amyloid β_{1-42} lerakódásból származó szenilis plakkok és a tau fehérje kóros foszforilációja következtében létrejövő neurofibrilláris fonadékok) jelenlétét az agyfolyadék kémiai vizsgálatával lehetséges megállapítani. AK-ban az agyfolyadék amyloid β_{1-42} szintje 50%-kal csökken, a H-tau szintje 300%-kal és a P-tau szintje 200%-kal növekszik (Shaw és mtsai, 2009). Ezen három paraméter mennyiségének meghatározása bár hasznos lehet a diagnosztikában, a módszer alkalmazása a mindennapi rutinban mégsem ajánlott metodológiai nehézségek miatt. Egy közelmúltban végzett vizsgálat eredményei szerint ugyanis minden laboratóriumnak külön-külön kell beállítania a „saját” normál értékeit (Forlenza és mtsai, 2015). A nemzetközi előírások alapján minimum elvárás az alkalmazott biomarkerek esetén 80% feletti érzékenység és a 75% feletti specificitás. A ma elérhető markerek önmagukban ezzel ellentétben csupán 50%-os hatékonyságúak (Oláh és mtsai, 2012). A megoldás a markerek kombinált analízise, illetve új markerek bevezetése lehet (Spitzer és mtsai, 2010).

Ezen előzmények alapján kutatásunk célja új, potenciális, AK specifikus és magas érzékenységgel rendelkező fehérje biomarkerek azonosítása liquorból (Deisenhammer és mtsai, 2009) és vérből. Az új markerek pontosabbá tehetnék a diagnózist, a betegség korábbi felismerését tennék lehetővé (Fagan és mtsai, 2010).

Korábbi, peptid mikrochip módszerrel végzett vizsgálataink eredményei alapján AK-ban 7 fehérje expressziója változik a liquorban (Oláh és mtsai, 2015). Ezen fehérjék az MGMT, parkin, ApoD, PAR-4, Cdk5, POLG és granzyme-B, melyek funkciója a neuronális

sejthalállal kapcsolatos, s utóbbi két fehérje AK-ban betöltött szerepe korábban még nem volt ismert.

Tervezett vizsgálatunkban ezen 7 fehérjére fókuszálva szeretnénk meghatározni a kontroll személyek és AK betegek agyfolyadékában mérhető mennyiségeit.

Az utóbbi években egyre több figyelem fordítódik az antimikrobiális peptidok AK-ban történő vizsgálatára, mivel a krónikus gyulladásokhoz társuló agyi elváltozások kialakulásában szerepük valószínűsíthető. Ebben az évben számoltunk be az antimikrobiális peptidok közé tartozó defenzinek emelkedett liquor szintjeiről AK esetében (Szekeres és mtsai, 2016).

Tekintettel arra, hogy ezen adatok még csak előzetes eredmények, az AK specifikus változások további validálása szükséges a defenzinek esetében is. Ezért a defenzinek mennyiségét is szeretnénk meghatározni mind a kontroll személyek, mind pedig az Alzheimer-betegek agyfolyadékában.

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.

2. A kutatás tudományos megalapozottságát, indokoltságát megalapozó irodalmi

hivatkozások megjelölése (elegendő a kutatás irányát jelző néhány irodalmi hivatkozás)

Deisenhamne F, Egg R, Giovannoni G, Hemmer B, Petzold A, Sellebjerg F, Teunissen C, Tumani H. EFNS guidelines on disease-specific CSF investigations. *EUR. J. Neurol.* 2009;16: 760-770.

Fagan AM and Holtzman DM. Cerebrospinal fluid biomarkers of Alzheimer's disease. *Biomark Med* 2010;4:51-63.

Forlenza OV, Radanovic M, Talib LL, Aprahamian I, Diniz BS, Zetterberg H, Gattaz WF. Cerebrospinal fluid biomarkers in Alzheimer's disease: Diagnostic accuracy and prediction of dementia. *Alzheimers Dement (Amst).* 2015;1:455-463.

Juhász G, Földi I, Penke B. Systems biology of Alzheimer's disease: How diverse molecular changes result in memory impairment in AD. *Neurochem Int.* 2011;58:739-750.

Olah Z, Pakaski M, Janka Z, Kalman J. Marking the Markers of Alzheimer's: Too good to diagnose, too bad to use? *Neuropsychopharmacol Hung.* 2012;14:165-176.

Oláh Z, Kálmán J, Tóth ME, Zvara Á, Sántha M, Ivitz E, Janka Z, Pákáski M. Proteomic analysis of cerebrospinal fluid in Alzheimer's disease: wanted dead or alive. *J Alzheimers Dis.* 2015;44:1303-1312.

Shaw LM, Vanderstichele H, Knapik-Czajka M, Clark CM, Aisen PS, Petersen RC, Blennow K, Soares H, Simon A, Lewczuk P, Dean R, Siemers E, Potter W, Lee VM, Trojanowski JQ. Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Cerebrospinal fluid biomarker signature in Alzheimer's disease neuroimaging initiative subjects. *Ann Neurol* 2009;65:403-413.

Spitzer P, Klafki HW, Blennow K, Buee L, Esselmann H, Herruka SK, Jimenez C, Klivenyi P, Lewczuk P, Maler JM, Markus K, Meyer HE, Morris C, Muller T, Otto M, Parnetti L, Soininen H, Schraen S, Teunissen C, Vecsei L, Zetterberg H, Wiltfang J. cNEUPRO: Novel Biomarkers for Neurodegenerative Diseases. *Int J Alzheimers Dis* 2010:548145.

Szekeres M, Ivitz E, Datki Z, Kálmán J, Pákáski M, Várhelyi ZP, Klivényi P, Zadori D, Somogyvári F, Szolnoki Z, Vécsei L, Mándi Y. Relevance of defensin β -2 and α defensins (HNP1-3) in Alzheimer's disease. *Psychiatry Res.* 2016;239:342-345.

3. A résztvevők toborzásának, beválasztásának, kizárásának rendszere

A részt vevő személyek a Pszichiátriai Klinika Memória ambulanciáján gondozott járó betegek és a Memória Osztályon ápolott betegek közül kerülnek beválasztásra. A nemi megoszlás terén törekszünk a 2:1-es nő:férfi arány megtartására. Alzheimer-kórban szenvedő betegeket választunk be vizsgálati csoportunkba.

Az Alzheimer-kór klinikai diagnózisát a BNO-10 és a DSM-5 kritériumainak megfelelően az anamnesztikus adatok, az általános fizikális és neurológiai státusz felvétele, a pajzsmirigyfunkciót és B12 vitaminszintet is magába foglaló laborvizsgálat, agyi képalkotó vizsgálat (koponya CT vagy MRI) és pszichodiagnosztikai tesztek (Mini-Mentál Teszt, Órarájzolás) eredményei alapján állítjuk fel. Vizsgálatunk kontroll csoportjába olyan nem Alzheimer-kórban szenvedő betegek kerülnek beválasztásra, akik egyéb neurológiai és/vagy pszichiátriai betegség alapján jelentkeztek a Neurológiai Klinikán vagy a Pszichiátriai klinikán.

Azon betegeket, akiknél a liquorvételek egyéb ok miatt kontraindikált kizárjuk.

A vizsgálat során minden beválasztott páciensről 1 alkalommal veszünk vér-, és liquor mintát. A lumbál punkciót a Pszichiátriai Klinika Memória Osztályán végezzük, ahová a páciens 24 órára fekvőbetegként felvesszük. A lumbál punkciót Dr Pákáski Magdolna osztályvezető főorvos, neurológus szakorvos végzi.

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

100 enyhe-, középsúlyos-, vagy súlyos stádiumban lévő, 60 év feletti Alzheimer-kór klinikai diagnózissal rendelkező férfi- és nőbeteget szeretnénk bevonni a vizsgálatba akiktől egy alkalommal vért és liquorot veszünk.

Kontrollként 100 nemben és korban illesztett, dementiában nem szenvedő páciens egyéb diagnosztikus céllal végzett lumbálpunkció során nyert liquor mintáit használnánk. A nemi megoszlás terén törekszünk a 2:1-es nő:férfi arány megtartására mind a kontroll-, mind pedig az Alzheimer csoportban.

5. A kutatás módszerei

A lumbal punctio az EFNS 2009-es ajánlása alapján történne (Deisenhammaer és mtsai., 2009). A diagnosztikus markereket ELISA módszerrel a potenciális markereket fehérje mikrochip, két-dimenziós elektroforézis, tömegspektrometria, realtime-PCR és western blot módszerekkel azonosítjuk.

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

A lumbal punctiot neurológus szakorvos végzi, az esetleges nem kívánatos mellékhatások megelőzése érdekében a betegeket 24 órás megfigyelésre felvesszük osztályunkra. Ez idő alatt bőséges folyadék bevitelt biztosítunk és a beteget fektetjük. A vérvételt szakasszisztens végzi, ebben az esetben a nem kívánt mellékhatások és szövődmények kockázata elhanyagolható.

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

A résztvevők adatait anonim módon kezeljük, a felvett adatokhoz sorszámokat

rendelünk, a minták azonosítása a sorszámok alapján történik.

8. A kutatás során nyert adatok statisztikai feldolgozásának módszere

A western blot, fehérje mikrochip, tömegspektrometria és Real-time PCR kísérletek során nyert adatokat statisztikai elemzését SSPS programmal végezzük. A vizsgált paraméterek közötti különbségeket T-próba és/vagy egy-, vagy több-szemponos ANOVA analízissel vizsgáljuk.

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, 2016. június hó 15. nap



Intézetvezető neve és aláírása

A handwritten signature in black ink, appearing to be "K. János", written over a horizontal dotted line.

Prof. Dr. Kálmán János

egyetemi tanár