

195/
2017-SZTE

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 :

Fej-nyaki és szájüregi daganatos betegek nyál és biopszia mintáinak molekuláris vizsgálata: metagenomikai analízis és potenciális daganat biomarkerek azonosítása

A kérelmező neve, munkaköre és beosztása:

Prof. Dr. Minárovits János egyetemi tanár

SZTE FOK Orálbiológiai és Kísérletes Fogorvostudományi Tanszék (6720 Szeged, Tisza Lajos krt. 64.).

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 LXXXVI. törvény.

1. A kutatás célja, indokoltsága és várható eredményének összefoglalása

A tradicionális rizikó faktorok mellett (dohányzás, alkohol fogyasztás, egyes humán papillomavírus törzsek) újabb vizsgálatok szerint egyes baktériumok vagy baktérium közösségek is közrejátszhatnak a fej nyak régió és ezen belül a szájüreg daganatainak kialakulásában (1). A kutatás egyik fő célja annak megállapítása, hogy mi módon változik meg a több mint 700 baktérium fajtából álló szájüregi mikroba-közösség (normál flóra) összetétele fej-nyaki és szájüregi daganatos betegek nyál és biopszia mintáiban. A mikroba-közösségek (mikrobioma) analízisét a korszerű "újgenerációs" DNS szekvenálási módszerek és alkalmazásával kívánjuk végezni (2-4). Ez a metodika lehetővé teszi a komplex bakteriális közösségek részletes, előzetes feltételezésektől független elemzését és alkalmas más kórokozók (DNS vírusok, gombák) azonosítására is (5). A baktérium közösségek feltérképezése hozzájárulhat a fej-nyaki és szájüregi daganatok kialakulásának jobb megértéséhez. A kutatás másik fő célja a fej-nyaki és különösen a szájüregi daganatok potenciális biomarkereinek azonosítása. A fej-nyaki és szájüregi daganatok által szintetizált biomolekulák (fehérjék, DNS és RNS molekulák, metabolitok) rendszeresen kimutathatók a páciensek nem-invazív módon nyerhető nyálmintáiból (6-8). A daganatos betegek szájüregi mintáiban ugyancsak detektálhatók az onkogenezisben potenciálisan közrejátszó daganatvírusok genomjai (1). Célunk a biopszia és nyálminták összehasonlítása révén olyan biomarkerek, elsősorban a karcinogenezis során kialakuló mutációk és metilált DNS szakaszok, onkovírus genomok, valamint megváltozott expressziós mintázatot mutató celluláris mikroRNS molekulák és fehérjék azonosítása molekuláris biológiai illetve immunológiai módszerekkel, melyek alkalmasak lehetnek a fej-nyaki és szájüregi daganatok korai stádiumban történő kimutatására és a terápia monitorozására. Ezek a vizsgálatok hozzájárulhatnak a fej-nyaki és szájüregi daganatok patogenezisének jobb megismeréséhez és elősegíthetik e daganatok korai diagnózisát és a kezelés monitorozását.

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

1. Hettmann A, Demcsák A, Decsi G, Bach Á, Pálinkó D, Rovó L, Nagy K, Takács M, Minarovits J. (2016). Infectious Agents Associated with Head and Neck Carcinomas. *Adv Exp Med Biol.* 897:63-80.
2. Kilian M, Chapple IL, Hannig M, Marsh PD, Meuric V, Pedersen AM, Tonetti MS, Wade WG, Zaura E. (2016). The oral microbiome - an update for oral healthcare professionals. *Br Dent J.* 221, 657-666.
3. Cox MJ, Cookson WO, Moffatt MF. (2013). Sequencing the human microbiome in health and disease. *Hum Mol Genet.* 2013 Oct 15;22(R1):R88-94.
4. Jovel J, Patterson J, Wang W, Hotte N, O'Keefe S, Mitchel T, Perry T, Kao D, Mason AL, Madsen KL, Wong GK. Characterization of the Gut Microbiome Using 16S or Shotgun Metagenomics. *Front Microbiol.* 2016 Apr 20;7:459.
5. Wirth R, Lakatos G, Böjti T, Maróti G, Bagi Z, Kis M, Kovács A, Ács N, Rákhely G, Kovács KL. (2015). Metagenome changes in the mesophilic biogas-producing community during fermentation of the green alga *Scenedesmus obliquus*. *J Biotechnol.* 215, 52-61.
6. Fliss MS, Usadel H, Caballero OL, Wu L, Buta MR, Eleff SM, Jen J, Sidransky D. (2000). Facile detection of mitochondrial DNA mutations in tumors and bodily fluids. *Science.* 2000 Mar 17;287(5460):2017-9.
7. Lopez-Serra, P., Esteller, M. (2012). DNA-methylation-associated silencing of tumor-suppressor microRNAs in cancer. *Oncogene* 31, 1609-1622.
8. Saxena S, Sankhla B, Sundaragiri KS, Bhargava A. (2017). A Review of Salivary Biomarker: A Tool for Early Oral Cancer Diagnosis. *Adv Biomed Res.* 2017 Jul 28;6:90.

3. A résztvevők toborzásának, beválasztásának, kizárásának rendszere.

A vizsgálat résztvevői a Szegedi Tudományegyetem, Fogorvostudományi Kar (SZTE FOK) Szájsebészeti Tanszék, valamint a Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar (SZTE ÁOK) Arc-, Állcsont- és Szájsebészeti Klinika és a Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Fül-Orr-Gégészeti és Fej-Nyaksebészeti Klinika páciensei, olyan 18-65 év közötti, magyar biztosítással rendelkező személyek, akiknél a fenti tanszékek munkatársai a fej-nyak régió vagy a szájüreg daganatát diagnosztizálják illetve szájüregi

prekancerózus állapot (OPMD, oral potentially malignant disorder) fennállását állapítják meg. A vizsgálat résztvevői továbbá a kontroll csoportot alkotó páciensek, akik a fent leírt megbetegedésekben nem szenvednek. A vizsgálatban való részvétel önkéntes. Kizáró kritériumok: terhesség, HIV, HCV vagy HBV fertőzöttség, szteroid kezelés a vizsgálatot megelőző hat hónapban.

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

A kutatásba bevonni kívánt résztvevők száma 180 fő (a fej-nyaki vagy a szájüregi daganattal diagnosztizált páciens: 80 fő; szájüregi prekancerózus állapottal diagnosztizált páciens: 20 fő; kontroll: 80 fő), valamennyien az SZTE FOK Szájsebészeti Tanszék valamint az SZTE ÁOK Arc-, Állcsont- és Szájsebészeti Klinika illetve a Fül-Orr-Gégészeti és Fej-Nyaksebészeti Klinika páciensei, férfiak és nők; életkor: 18-65 év.

5. A kutatás módszerei

Az SZTE FOK Szájsebészeti Tanszékén és az SZTE ÁOK Fül-Orr Gégészeti és Fej-Nyaksebészeti Klinikáján illetve a az SZTE ÁOK Arc-, Állcsont- és Szájsebészeti Klinikáján a fej nyak régió daganatával vagy szájüregi rákkal diagnosztizált, illetve szájüregi prekancerózus állapottal jelentkező betegektől nem stimulált nyálmintát vesznek. Ezt követően ugyanezeketől a betegektől a szakma szabályainak megfelelően szövettani vizsgálatra vesznek mintát, szájüregi, nyelvgyöki és tonsilla tumor esetében helyi érzéstelenítésben (tetrakain ephedrines spray-vel történő befújást követően 1 perc várakozás után), próbaexcisióval. A gége és hypopharynx daganatok esetén altatást végeznek és laryngoszkópos feltárással előzetes érzéstelenítés nélkül végzik a mintavételt. A szövetmintákat kettéosztják, az egyik részt lefagyasztják és a molekuláris vizsgálatok elvégzéséig az SZTE FOK Orálbiológiai és Kísérletes Fogorvostudományi Tanszékén -76°C-

on tárolják, a másik részt 4%-os formalin oldatban fixálják és szövettani vizsgálatra történő elküldésükig az SZTE ÁOK Fül-Orr Gégészeti és Fej-Nyaksebészeti Klinikáján és Arc-, Állcsont- és Szájsebészeti Klinikáján, illetve az SZTE FOK Szájsebészeti Tanszékén tárolják. A lefagyasztott mintákból DNS-t és mikroRNS-t izolálnak. A mikroRNS mintázatot reverz transzkripciót követő újgenerációs szekvenálással vagy nanostring módszerrel, az onkovírus genomokat PCR-rel (polimeráz láncreakcióval) és szekvenálással, a daganatsejtek DNS metilációs mintázatát metiláció specifikus PCR-rel, a mitokondriális genomok mutációit a D-hurok szekvenálásával határozzák meg. A nyálmintákban egyes autokrin növekedési faktorok szintjét ELISA módszerrel mérik. A kontroll csoport tagjai az SZTE FOK nem daganatos páciensei közül kerülnek ki, akiknél a fogorvosi vizsgálat alapján fogeltávolítás szükséges. A vizsgálat során a páciensek nyálmintáit és az eltávolított foghoz kapcsolódó szöveti részeket analizálják. A nyál- és szövetminták mikróba közösségeinek analízisét DNS izolálás és mintaelőkészítés után Ion Torrent PGM szekvenáló platform segítségével (Life Technologies), Ion Torrent PGM 316 chip-ek felhasználásával, vagy a 16S riboszómális RNS-t kódoló gén egyes szakaszainak megfelelő primerekkel történő amplifikációját követően Illumina szekvenáló technológiával határozzák meg. A leolvasott szekvenciák és az egyes mintákban jelen lévő mikrobák azonosítása MEGAN szoftver csomag felhasználásával történik. A karcinogenezisben potenciálisan szerepet játszó egyes bakterium fajok detektálását valós-idejű PCR-rel is megkísérlik.

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

A beavatkozásnak a szakma szabályai szerint végzett rutin diagnosztikai vizsgálatához képest fokozott kockázata nincs. A vizsgálat szövődményei megegyeznek a rutin diagnosztikai vizsgálat szövődményeivel. Nemkívánatos esemény bekövetkeztekor a vizsgáló orvosok a szakma szabályai szerint járnak el.

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

A vizsgálatba bevont személyektől vett mintákat kódoljuk, így a páciensek adatai nem lesznek összekapcsolhatók a publikált eredményekkel. A kódszámokat és a személyazonosító adatokat a Programvezető tartja titkosítva/elzárva.

8. A kutatás során nyert adatok statisztikai feldolgozásának módszere

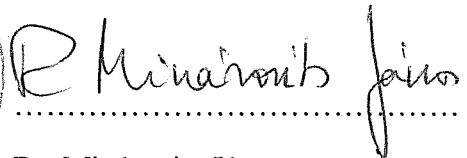
Az adatokat a nyilvánosan hozzáférhető MEGAN szoftver csomag felhasználásával illetve az IBM SPSS Statistics Standard csomag segítségével elemezzük.

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.

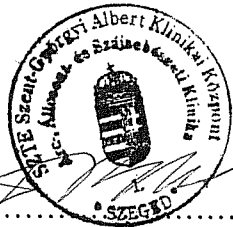
Szeged, 2017. szeptember hó 15. nap



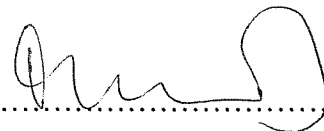
Dr. Laczkóné Dr. Turzó Kinga
dékán, egyetemi docens, SZTE FOK



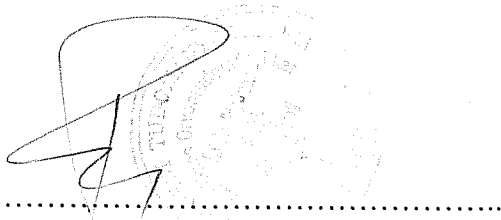
Dr. Minárovits János
egyetemi tanár, a kutatás vezetője,
SZTE FOK



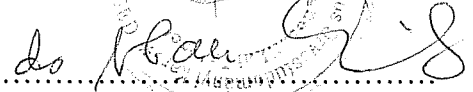
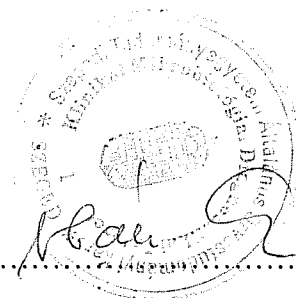
Prof. Dr. Dr. Piffkó József,
tanszékvezető egyetemi tanár, SZTE ÁOK,
Arc-, Állcsont- és Szájsebészeti Klinika



Prof. Dr. Nagy Katalin,
tanszékvezető egyetemi tanár,
SZTE FOK, Szájsebészeti Tanszék



Prof. Dr. Rovó László,
tanszékvezető egyetemi tanár, SZTE ÁOK,
Fül-Orr-Gégészeti és Fej-Nyaksebészeti Klinika



Zsoldiné Dr. habil. Urbán Edit,
intézetvezető egyetemi docens,
SZTE ÁOK, Klinikai
Mikrobiológiai Diagnosztikai Int.