

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)

Malignus daganatok molekuláris ujjlenyomat vizsgálata

A kérelem iktatási száma: 10/2018-SZTE

A kérelmező neve, munkaköre és beosztása: Dr Hideghéty Katalin egyetemi docens

1. A kutatás célja, indokoltsága és várható eredményének összefoglalása

A kutatás célja, hogy felmérje lézeralapú molekuláris elemző vizsgálati technikák megvalósíthatósági és diagnosztikai potenciálját nagy érzékenységű vér-biomarkerek azonosítására, amely javíthatja a malignus folyamatok korai detektálását és a betegek kockázat alapú stratifikációját. A "Molekuláris ujjlenyomatvételezés" egy új lézervizsgálat, mely során a vér lézervilágítás utáni spektrum-analízis a vér összetevői által meghatározott egyfajta ujjlenyomatot eredményez. A kutatás célja annak feltárása, hogy ezen új eljárással a daganatos betegség korábban felfedezhető-e, mint az eddig

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.

alkalmazott eljárásokkal. A hatékony, lézer alapú diagnosztikai módszerek fejlesztése, rákos betegségben szenvedők, és daganatmentes résztvevők vérmintáinak tanulmányozása, összehasonlítása által tervezett.

A projektben használt új technológia lehetővé teszi a vérplazma molekuláris összetételében tumor miatt bekövetkező legkisebb változásainak pontos és megbízható kimutatását a rákos esetekben elemzett kvantitatív vibrációs molekuláris ujjlenyomatvétel és a megfeleltetett kontrollok közötti összehasonlítással. Az adatok összefüggnek a tömegspektrometriás alapú proteomikával és a legkorszerűbb biomarkerekkel, klinikai paraméterekkel és klinikai képalkotással.

A perifériás vérből származó plazma és szérum minták, amelyeket folyékony biopsziáknak (*liquid biopsies*) nevezünk, a klinikai elemzésben előnyben részesített mátrixok - általánosan elérhetőek, minimálisan invazívak, és a klinikai gyakorlatban már megalapozottak. Bár a prediktív rákos biomarkerek kutatása széleskörű, csak kevés hatékony vér -teszt létezik a rutin klinikai gyakorlatban, azok is egy-egy molekula meghatározásán alapulnak. Az emberi vér azonban több tízezer különböző molekulából áll. A normális biológiai eltéréseken túlmutató abundanciájuk változása jelezheti a kóros élettani állapotot, a betegség kórisméjét. Nagy relatív molekuláris koncentráció változások mind magas, mind pedig alacsony kifejeződés mellett, biomarkerekként használhatók.

Jelenleg a többszörös vérkomponensek egyidejű elemzésére irányuló megközelítések közé tartozik a tömegspektrometria (egyedi összetevők detektálása) és a vibrációs spektroszkópia (a minták sokaságából származó integrált hatások mérése). Ezek a technikák elsősorban a nagy mennyiségű összetevőkre érzékenyek, miközben "vakok" a különféle alacsony koncentrációjú molekulákra, beleértve azokat is, amelyeknek nagy relatív koncentráció változásai lehetnek. Ezért számos potenciális molekuláris marker már nem érhető el a molekuláris patológiai vizsgálattal.

Az LMU Fizikai Tanszéken, Prof. Dr. Krausz Ferenc vezetésével dolgozó lézerfizikai kutatócsoport a közelmúltban egy újszerű eljárást fejlesztett ki, mely differenciál molekuláris ujjlenyomatot (dMF) eredményez, molekuláris rezgések excitációját követő kevés ciklusú infravörös és látható lézerfényvel végzett mező-felbontású spektroszkópiájával (field-resolved spectroscopy FRS). Az FRS és a dMF Watt-skálájú, többmagos sebességű, kis ciklusú infravörös lézerforrásokra támaszkodik, amelyek felülmúlják az infravörös szinkrotronok fényerejét.

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

Torre, L.A. *et al.*, 2012. *CA Cancer J Clin* **65**, 87-108 (2015).

³ Harbeck, N. & Gnant, M. *Lancet* (2016).

⁴ Malvezzi, M. *et al. Ann Oncol* **27**, 725-731 (2016).

⁵ Hamdy, F.C. *BJU Int* **118**, 843 (2016).

⁶ Weiner, A.B., *et al. Prostate Cancer Prostatic Dis* **19**, 395-397 (2016).

⁷ Anderson, N.L. *Clin Chem* **56**, 177-185 (2010).

⁸ Aebersold, R. & Mann, M. *Nature* **537**, 347-355 (2016).

3. A résztvevők toborzásának, beválasztásának, kizárásának rendszere

Toborzás:

A potenciálisan beválasztható betegek kiválasztását az SZTE Onkoterápiás Klinika és Sebészeti Klinika végzi. A kiválasztást követően részletes tájékoztatás történik a kutatási célokról, folyamatokról, várható előnyökről és kockázatokról.

Az önkéntesek tájékoztatást kapnak a tanulmányról szórólapokon és plakátokon keresztül, amelyeket az érintett szervezeti egységeknél fognak megjeleníteni, és elosztásra kerülnek pl. a beteget kísérő személyeknek. Ha beleegyeznek a részvételbe, a vizsgálat személyzete megmagyarázza a kutatási célt, ellenőrzi, hogy a résztvevő teljesíti-e a felvételi kritériumokat, és ismerteti a vizsgálati folyamatokat, eljárásokat, előnyöket és kockázatokat. Ezt követően a résztvevő kitölti a beleegyezési nyilatkozatot.

Beválasztási kritériumok:

- 18 év feletti felnőttek, akik hozzájárulhatnak ehhez a vizsgálathoz
- Daganatos betegek esetében: diagnosztizált tumor a tüdőben, a prosztata, az emlő, a fej vagy a nyak vagy a vastag-végbél területén.
- A kontrollcsoport esetében: jóindulatú betegséggel kezelték és egészséges önkéntesek, akiknek jelenleg nincs és korábban nem volt rosszindulatú betegsége.
- A tanulmány résztvevője hozzájárult a tanulmányban való részvételhez

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

A résztvevők száma összesen:

N = 2000 (200 rákos eset, versus 200 kontrol eset, 5 tumortípusban: tüdő, emlő, prosztata, fej és nyak és vastag-végbél) elemzés céljából, ez 3200 és 6400 regisztráltat jelent annak érdekében, hogy elegendő számú rákos minta álljon rendelkezésre, feltételezve 50% 25%-os diagnózis arányt.

5. A kutatás módszerei

A befogadási kritériumokat teljesítő beteget és önkénteseket részletesen tájékoztatjuk a tanulmány folyamatáról, kockázatairól és előnyeiről. Ha beleegyeznek, 10 ml vért veszünk. Szérum és / vagy plazmamintákat készítünk és tárolunk -80 ° C-on azonosító mintaszámmal ellátva. A mintaazonosító nem tartalmazza a résztvevő nevét, kezdőbetűit vagy születési adatait. A femtosekundum-lézer alapú molekuláris vibrációs spektroszkópiai elemzéshez a mintákat a Müncheneri LMU Fizikai Intézetébe (Fakultät für Physik) juttatjuk el. Minőségellenőrzés céljából elvégzik a minták referenciatömegspektrometriáját a Max Planck Institute of Biochemie Martinsried-ben.

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

A résztvevők potenciális kockázata:

A hematoma megjelenésén kívül nincs egyéb kockázata a vérvételnek. Ritka esetekben előfordulhat, hogy a szúrás helyén kisebb idegi sérülés vagy duzzanata jön létre. A vérminta vétele néha a vénapunkció miatt kellemetlen és fájdalmas lehet. Nagyon ritka esetekben a szúrás területe fertőződhet. Az utóbbi kockázatot steril tűk alkalmazásával és antiszeptikus permetezés alkalmazásával minimalizáljuk, továbbá a vérminta nyerése az esetek nagy többségében a rutin kivizsgálás során egyéb laborvizsgálatokhoz szükséges vérvétel alkalmával történik.

Potenciális előnyök:

A vizsgálat résztvevője számára nincs közvetlen előny. Az ebből a tanulmányból nyert ismeretek azonban elősegíthetik a előrehaladott daganatok diagnosztizálására és kezelésére szolgáló eszközök kifejlesztését. A résztvevő minta alapján végzett elemzések eredményeit a jelen vizsgálat részeként nem közlik a résztvevővel.

Orvosi Indokolás:

Orvosi szempontból úgy véljük, hogy a tanulmány etikailag indokolt. A vizsgálat résztvevőit minimálisan befolyásolja a részvétel. A tanulmányból származó ismeretek lehetséges nyeresége igazolja a vérmintavételt.

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

Az álnév a titkosítási kódot írja le a klinikai adatok és a vizsgálati betegek valós neve között. Az álneve elektronikus pseudonimizálási listán szerepel. Az álnevek listája megtalálható online a med-spec-RAD-Onko szerveren. Ezt a listát bizalmasan kell kezelni. A listához való hozzáférés csak a vizsgálatban részt vevő kórházi személyzet számára engedélyezett.

A mintaazonosító a vérminták és a vizsgálati betegek valódi nevének titkosítási kódját írja le. Minden résztvevő, aki aláírja a beteg beleegyezést, álnevet kap. Ebből a célból előre nyomtatott mintalapok csatolt mintaazonosítóval állnak rendelkezésre. Ezek a mintaoldalak a klinika megfelelő vizsgálati mappájába kerülnek. A mintalapok egy A4-es lapból állnak, egy-egy üres vonallal az igazi név számára, az álnév, a nyomtatott mintaazonosító és a csatolt vonalkódos címke számára. A tényleges mintaazonosító egy XXYYYY típusú 6 jegyű szám. A XX a számítástechnikai kórház által létrehozott számot jelöli. A YYYY a 0001 és a 9999 közötti szám. Ez a mintaazonosító szerepel a mintalapon, és a vérgyűjtő cső és alikvot vonalkód-címkék alapvető elemét képezi.

A vérvételhez a "P" plazma vonalkód-címke és az "S" szérum vonalkód-címkéje áll rendelkezésre. Ezek a vérvételi vonalkód-címkék a következő 7 számjegyű azonosítótípussal rendelkeznek: PXXYYYYY vagy SXXYYYYY.

Ezenkívül a megfelelő plazma és szérum minták pszeudonizálására szolgáló vonalkód-címkék a mintalapon találhatóak. Ezek a következő 8 számjegyű azonosítótípussal rendelkeznek: PXXYYYYY_A - PXXYYYYY_E vagy SXXYYYYY_A - SXXYYYYY_E. A mintaazonosító a fent leírt mapelemből áll, beleértve a plazma vagy szérum kifejezést és az A-E betűket a mintákhoz. A mintalapon legalább 5 vonalkód található a plazmához és 5 vonalkódot a szérum minták részhez.

Az előzetesen elkészített minták a megfelelő klinikán találhatóak a "Pilot Study L4L - Hozzájárulás és vonalkódok" címkével ellátott mappában.

Az elektronikus álnevezési listát az LMU klinikai projektmenedzsmentje biztosítja, felelőse: Ms. Juliane Bock

8. A kutatás során nyert adatok statisztikai feldolgozásának módszere

Abban az esetben, ha AUC értéke 0,65 és 95% -os konfidencia intervallum, 200-as eset / 200 kontrollból álló minta becsülheti ezt az AUC értéket 0,054 hibahatáron belül. Ugyanazon mintaméret esetén az AUC > 0,50 null értéke 0,50-re az AUC > 0,50 alternatívájával szemben a 0,05-ös szinten végrehajtott hipotézis-tesztnél 0,80-nál nagyobb erősségű lenne, ha elutasítjuk a nulla értéket, ha az igazi AUC értéke 0,58 vagy nagyobb. Az 1. ábrán látható 1080 hullámhosszú spektrumérték AUC értéke sokkal nagyobb, 0,90-nél. Ez az AUC becsült 0,037-

es határértékkel a tervezett minta méretében, és a null hipotézis elutasításának hatása ezen alternatíva esetében meghaladja a 0,90 értéket. Ez az AUC becslés megerősödik, mivel az esetek és az ellenőrzések között a legmagasabb elválasztó hullámhosszat választották ki; a gyakorlatban egy olyan automatizált algoritmust alakítanak ki, amely az összes hullámhosszat integrálja a résztvevő tulajdonságokkal együtt, a várható 0,65 környékén az AUC alacsonyabb tartományával.

Elemzési terv:

Mindegyik rák esetében az egyéni és az átlagos spektrumokat az 1. ábrán szemléltetjük. A 200 esetet és a >200 kontrollt a csoport minden egyes csoportjának 3/4-ére osztják szét, és mindegyik csoport 1/4-ét tesztelik. Az intervallumok különböző választási lehetőségeinek spektrumonkénti integrált átlagát a betegek demográfiájával kombinálva, beleértve az életkort és a nemet (adott esetben), többek között különféle gépi tanulási módszerek segítségével vizsgálják meg a rák optimális kockázatbecslésének megteremtése céljából a tesztkészlet. A validálást az AUC-értékkel kell elvégezni konfidencia-intervallumokkal, valamint a nullhipotézis azon tesztével, hogy az AUC = 50% az alternatíva helyett, hogy az AUC > 50% a 0,05-ös szinten.

Statistikai teljesítmény számítások:

A mintanagyságot úgy határozták meg, hogy az elsődleges végpontot, az AUC-t egy előre meghatározott értéken belül 95% -os konfidenciaintervallumon, valamint az nullhipotézis tesztjén határozzák meg, hogy az AUC = 50% (diszkrimináció az eset előrejelzéséhez képest nem jobb, mint egy érme forgatása), szemben azzal az alternatív hipotézissel, hogy az AUC > 50%, az 5% -os szignifikancia szint és a 80% -os teljesítmény érvényesül az adott alternatívák esetében. (Hajian-Tilaki K, Journal of Biomedical Informatics 48: 193-204, 2014). A minta mérete minden egyes rák esetében külön-külön történik.

In preliminary studies of 36 non-small cell lung carcinoma (NSCLC) cancer patients versus 36 controls, mean spectra were separated as shown in Figure 1.

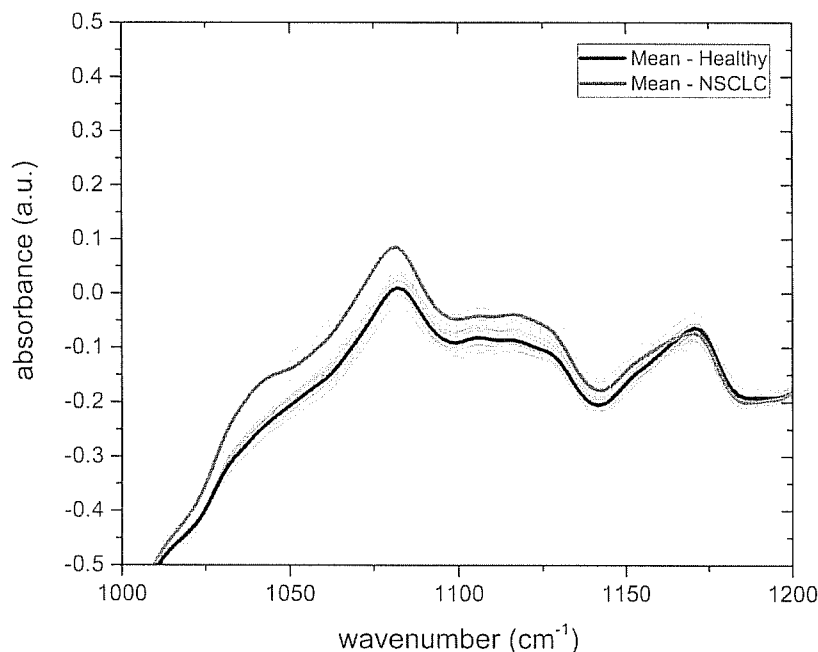
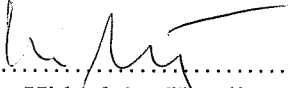



Figure 1: Spectra per wavelength for 36 non-small cell lung cancer patients (NSCLC, red) and 36 controls (healthy, black) with averages in bold.

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. január hó 2 nap


.....
Dr Hideghéty Katalin
kérelmező


.....
Prof. Dr Kahán Zsuzsanna
intézetvezető