

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 Helsinkai 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:

Sebészeti profilaxis során használt antibiotikumok hatása a bélnyálkahártya epithelsejtjeinek mitokondrium funkciójára és mikrobiom összetételére

A kérelem iktatási száma: 120/2021-SZTE RKEB

A kérelmező neve, munkaköre és beosztása: **Dr. Hartmann Petra** egyetemi adjunktus, SZTE Traumatológiai Klinika

1. A kutatás célja, indokoltsága és várható eredményének összefoglalása

A kolorektális beavatkozások során a műtéti területet érintő fertőzések (surgical site infection, SSI) megelőzése érdekében antibiotikum profilaxist alkalmaznak. Az alkalmazott antibiotikumoknak azonban számos mellékhatása lehet, melyek közül az enteropátia a leggyakoribb, a kezelték 5-39%-át érinti (McFarland et al., 1998). A klinikai megjelenés az enyhe, néhány napig tartó esetektől a súlyos, fulmináns tünetekkel járó

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.

vastagbélgyulladásig terjed, amely a betegek 3-5%-ánál alakul ki (Mullish et al., 2018). A baktériumokra gyakorolt közvetlen hatás (bakteriális diszbiózis, többségében *Clostridium difficile* túlszaporodással), amelyről hagyományosan azt gondolják, hogy ezt az állapotot okozza, azonban csak az antibiotikumokkal összefüggő hasmenéses esetek 10-20%-áért felelős. Ez arra utal, hogy a már azonosított okokon kívül más tényezők is szerepet játszhatnak a gyógyszerek káros hatásaiban.

Egyre több bizonyíték van az antibiotikumok közvetlen bélhámsejt károsító hatására, aminek hátterében a baktériumok szerkezetéhez hasonló sejt szervecske, a mitokondrium állhat. A baktériumokból származó fehérjék és mitokondriumok nagyfokú homológiával rendelkeznek (Zimorsky et al., 2014), így az antibiotikumok befolyásolhatják az eukarióta szerkezetet a mitokondriális biogenezis gátlásával. Például a mitokondriumok 50S riboszóma alegysége megegyezik a bakteriális megfelelőjével, így az erre ható makrolid- és tetraciklin antibiotikumok gátolhatják a működését (Lamb et al., 2015). Az egyéni vagy kombinált gyógyszeres terápiák mitokondriális hatását klinikai körülmények között még nem vizsgálták, mert szinte lehetetlen elkülöníteni a betegség-specifikus mitokondriális rendellenességet a iatrogén elváltozásoktól. Ezért lehetséges, hogy biztonságosnak tartott gyógyszerek eddig nem ismert, de jelentős sejtszintű károsodáshoz vezethetnek a mitokondriális diszfunkción keresztül.

Az eddigi módszerek nem tették lehetővé a bélnyálkahártya sejtek mitokondriumainak vizsgálatát, de módszerünkkel, nagy felbontású respirométer (HRR) segítségével a műtét során vett mintákból ez gyorsan kivitelezhető (Gnaiger et al., 2008, Strifler et al., 2016). A respirometriás eredményeket összevetjük a betegek bélflóra összetételével, azt kizárandó, hogy az epithelsejtek mitokondriális funkcióját a toxin termelő baktériumok túlszaporodása okozza. Tanulmányunk hipotézisét korábbi kísérletes vizsgálati eredményeinkre alapozzuk. Állatkísérleteinkben kimutattuk, a standard sebészi antibiotikum profilaxis (i.v. Ceftriaxon, p.o. Rifaximin) hatására szignifikánsan rosszabb mitokondriális funkciót mérünk a vastagbél mucosa epithelsejtjeiből az egészséges kontrollokhoz képest.

Jelen kutatásunk révén a kolorektális sebészeti beavatkozások során a gyulladásos szövődmények megelőzése céljából alkalmazott antibiotikumok eddig fel nem ismert mellékhatására derülhet fény. E gyógyszerek és kombinációik alkalmazása során a mellékhatások hátterében (hasmenés, fekélyképződés) a korábban azonosított (pl. bakteriális) tényezők mellett a mitokondriumok károsodásának szerepét feltételezzük. Amennyiben hipotézisünk igazolódik, a mitokondriális funkciók védelme új célpontot jelent a bélnyálkahártya megóvása szempontjából és új feladatot a gyógyszer-fejlesztések számára.

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

1 McFarland, L.V. Epidemiology, risk factors and treatments for antibiotic-associated diarrhea. Dig Dis. 1998, Sep-Oct; 16(5):292-307.

Mullish, B.H.; Williams, H.R. *Clostridium difficile* infection and antibiotic-associated diarrhoea. Clin Med (Lond). 2018, Jun;18(3):237-241.

Zimorski, V.; Martin, F.W. Subcellular targeting of proteins and pathways during evolution. New Phytol. 2014, Jan;201(1):1-2. doi: 10.1111/nph.12566. DOI: 10.1111/nph.12566. 5.

Lamb, R.; Ozsvári, B.; Lisanti, L.C.; Tanowitz, H.B.; Howell, A.; Martínez-Outschoorn, U.E.; Sotgia, F.; Lisanti, M-P. Antibiotics that target mitochondria effectively eradicate cancer stem cells, across multiple tumor types: treating cancer like an infectious disease. *Oncotarget*. 2015, Mar 10;6(7):4569-84. doi: 10.18632/oncotarget.3174. DOI: 10.18632/oncotarget.3174.

Gnaiger, E. (2008) Polarographic oxygen sensors, the oxygraph and high-resolution respirometry to assess mitochondrial function. In: *Mitochondrial Dysfunction in Drug-Induced Toxicity* (Dykens JA, Will Y, eds) John Wiley & Sons, Inc, Hoboken, NJ:327-52. 2.

Strifler, G.; Mészáros, A.; Pécz, D.; Ficzer, Á.; Baráth, B. et al. Examination of liver mitochondria with respirometry. *Magy Seb*. 2016, Dec;69(4):194-198.

3. A résztvevők toborzásának, beválasztásának, kizárásának rendszere

A vizsgálatba olyan betegeket tervezünk bevonni, akiket kolorektális műtetre jegyeznek elő. 60 beteg bevonását tervezzük: a résztvevő betegek 50%-át az egyik, 50%-át a másik nemből vonjuk be, az életkor esetében randomizált bevonást alkalmazunk. A bevonási feltétel az aláírt beleegyező nyilatkozat.

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

A Sebészeti Klinika betegei közül 60 beteg bevonását tervezzük: a résztvevő betegek 50%-át az egyik, 50%-át a másik nemből vonjuk be, az életkor esetében randomizált bevonást alkalmazunk.

5. A kutatás módszerei

A sebészeti betegektől egy alkalommal történik mintavétel: kolorektális sebészeti beavatkozás során a műtéti indikációt képező betegség miatti szövettani mintavétellel egyidőben, ami plusz terhet nem jelent a beteg számára. A biopszia során nyert mintákat foszfát pufferes sóoldatba (PBS) helyezzük, majd hűtve tároljuk a respirometriás mérés elvégzéséig. A minták feldolgozása nagy felbontású respirometriás készülék (Oroboros oxigráf) segítségével történik a Szegedi Tudományegyetem Sebészeti Műtéttani Intézetében. Ezt követően összevetjük a respirometriás eredményeket a mintavétel időszakából származó klinikai paraméterekkel, különös tekintettel az antibiotikum kezelésre. A respirometriás vizsgálatot kiegészítjük a széklet bakteriális összetételének vizsgálatával. Minden székletmintát a mintavételtől számított 20 percn belül -80°C -on tároltunk a későbbi DNS-izolálás és metagenom szekvenálás céljából. A betegek számára a széklet mintavétel plusz megterhelést nem jelent.

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

A kutatási célból vett szövetminta 4-5 mm-es, endoszkópos biopszia méretű, akár kinyerhető a műtét során szövettani vizsgálat céljából eltávolított szövetmennyiségből. A vétele során nem várható nemkívánatos esemény.

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

A kutatás ennek ellenére a Helsinki Nyilatkozat etikai alapelveinek maradéktalan betartásával kerül levezetésre:

- A kutatás eredményei hatékonyan mozdíthatják elő a kolorektális műtétben részesülő beteg ellátásának, alkalmazott antibiotikum profilaxis kiválasztásának biztonságosságát, vizsgálatunk ezáltal közérdeket szolgál; a cél azonban a kutatási alanyok jogaival és érdekeivel szemben nem élvez elsőbbséget.
- Vizsgálatunk a terápia sikerességére nincs hatással, nem befolyásolja a betegek állapotát, erőforrásokat az ellátó team-től nem von el.
- A beteg a kutatásról tájékoztatást és beleegyező nyilatkozatot kap.
- A betegek azonosítását lehetővé tévő személyes adat, képanyag, vagy egyéb formátumú médiafile nem kerül közzétételre a beteg beleegyezése nélkül.

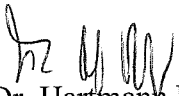
8. A kutatás során nyert adatok statisztikai feldolgozásának módszere

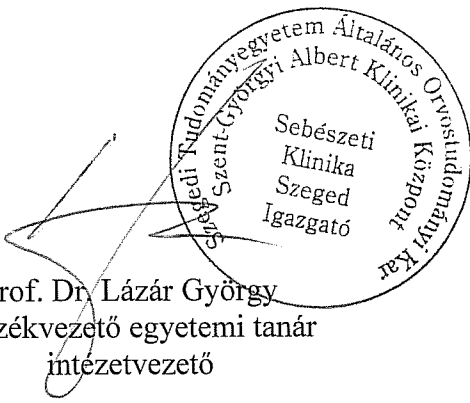
Az respirometriás adatok eloszlásának vizsgálatához (normális- vagy nem normális eloszlás) a Kolmogorov-Szmirnoff próbát alkalmazzuk.

Az adatok összehasonlítására normál eloszlás esetén ismételt mérésre ANOVA-t alkalmazunk, nem normális eloszlás esetében nem-paraméteres ismételt mérésre ANOVA-t (Friedman-teszt) használunk. Mindkét esetben Dunn-teszttel végezzük a posthoc összehasonlítást.

Nyilatkozom, hogy a fenti adatok nem sértik a kutatásnak a szellemi alkotások védelmére vonatkozó érdekeit és nem tartalmazzak 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, 2021. május 18.


Dr. Hartmann Petra
egyetemi adjunktus
kérelmező


Prof. Dr. Lázár György
tanszékvezető egyetemi tanár
intézetvezető