

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

**A kutatási terv közérdekű adatainak kivonata  
beavatkozással járó vizsgálatok számára**

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

A téma megnevezése: „**Kolinerg gyulladáscsökkentő útvonal vizsgálata artritiszben**”

A kérelem iktatási száma: 68/2014

A kérelmező neve, munkaköre és beosztása:

**Dr. Varga Endre, egyetemi tanár - kutatásvezető**

Szegedi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar

Szent-Györgyi Albert Klinikai Központ

Traumatológiai Klinika

**1. A kutatás célja, indokoltsága és várható eredményének összefoglalása**

A klinikai vizsgálat célja az endogén kolinerg gyulladáscsökkentő útvonal ízületi gyulladásra kifejtett hatásának vizsgálata önkéntesek ízületi folyadék és vérmintái segítségével.

A szervezet saját gyulladáscsökkentő folyamatai közül a „kolinerg gyulladáscsökkentő útvonalat” nemrég fedezték fel, szerepét ízületi gyulladás esetén azonban még nem tárták fel [1]. A nervus vagus fő neurotranszmittere, az acetilkolin a nikotinerger alfa7 alegység ( $\alpha 7$ -nAChR) közvetítésével képes a gyulladásos reakciók szabályozására. Az ízületeknek nincs vagalis beidegzésük, de az  $\alpha 7$ -nAChR alegység jelen van az egészséges synoviumon is, reumatoid artritiszben pedig nemcsak ennek fokozott expresszióját, de a vagus csökkent tónusát is kimutatták [2-5]. A humán mintákból tervezett vizsgálatok révén ennek az útvonalnak a részletesebb megismerését, az  $\alpha 7$ -nAChR-függő folyamatok artritisz pathogenezisében betöltött szerepének tisztázását tervezzük. Vizsgálataink révén remélhetőleg új terápiás támadáspontok azonosítása válik lehetővé ízületi gyulladásban.

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

- [1] Tracey KJ. The inflammatory reflex. *Nature*. 2002;420:853–9.
- [2] Bruchfeld A, Goldstein RS, Chavan S, Patel NB, Rosas-Ballina M, et al.. Whole blood cytokine attenuation by cholinergic agonists ex vivo and relationship to vagus nerve activity in rheumatoid arthritis. *J Intern Med*. 2010;268:94-101.
- [3] Gergalova G, Lykhmus O, Komisarenko S, Skok M.  $\alpha 7$  nicotinic acetylcholine receptors control cytochrome c release from isolated mitochondria through kinase-mediated pathways. *Int J Biochem Cell Biol*. 2014;49C:26-31.
- [4] van Maanen MA, Stoof SP, van der Zanden EP, de Jonge WJ, Janssen RA, et al. The  $\alpha 7$  nicotinic acetylcholine receptor on fibroblast-like synoviocytes and in synovial tissue from rheumatoid arthritis patients: a possible role for a key neurotransmitter in synovial inflammation. *Arthritis Rheum*. 2009;60:1272-81.
- [5] Westman M, Engstrom A, Catrina I, Lampa J. Cell specific synovial expression of nicotinic  $\alpha 7$  acetylcholine receptor in rheumatoid arthritis and psoriatic arthritis. *Scandinavian J Immunol*. 2009;70:136–40. São Paulo, SP, Brazil.

## **3. A résztvevők toborzásának, beválasztásának, kizárásának rendszere**

Az ízületi gyulladás pathomechanizmusára vonatkozó vizsgálatainkat az SZTE Újklínika Központi Műtőjében térdprotézis beültetés vagy térdarthroszkópia miatt operált betegektől származó ízületi belhártya mintákon, valamint az SZTE Traumatológiai Klinika Ambulanciáján feszülő térd miatt térdpunkcióval kezelt betegek ízületi folyadék mintáján kívánjuk elvégezni. A mintavételek nem járnak a betegek számára plusz beavatkozással, mivel a beavatkozás során egyébként is eltávolított ízületi folyadék és ízületi belhártya kerül vizsgálatra. Az összes résztvevőnek meg kell felelnie az összes bevonási és kizárási kritériumoknak.

### *Bevonási kritériumok:*

A vizsgálatban önként vállalkozók vesznek részt, akik a beleegyező nyilatkozatot aláírták, mielőtt bármilyen a vizsgálattal kapcsolatos munkára sor kerül.

18-70 év közötti, oszteoartrózisban vagy reumatoid artritiszben, vagy térd sérülést szenvedett betegektől történik a mintavétel.

### *Kizárási kritériumok:*

Belső szteroid kezelés 30 napon belül.

Nem szteroid gyulladáscsökkentő tartalmú gél helyi (térd feletti bőrön való) alkalmazása a mintavétel előtt egy nappal.

Syncumar vagy Warfarin szedése.

Terhes vagy szoptató nők

#### **4. A kutatásba bevont kivánt résztvevők száma (összesen és kutatóhelyenként), neme, életkora**

50 önkéntes betegektől történik a mintavétel, akik oszteoartrózisban vagy reumatoid artritiszben szenvednek, vagy térd sérülést szenvedtek. A vizsgálatba bevont betegek 18-70 év közöttiek, a férfi nő arány előre nem meghatározott.

#### **5. A kutatás módszerei**

A gyakorlati kivitelezés során az önkéntesek műtétje során (térdprotézis beültetés, vagy artroszkópia) az ízület megnyitását követően kb. 5\*5 mm-es synovium minta vétele történik a tok anterior felszínéből, mely láthatóan nem a Hoffa-test zsírszövege. A szövetdarabot jégen tartott 5 ml PBS oldatban helyezzük el, és **két órán belül megtörténik a feldolgozás**. A szövetmintákból rutin hisztológiát, valamint LSCM-el  $\alpha$ 7-nAChR kimutatást tervezünk fluoreszcensen jelölt antitesttel. Ezen kívül ízületi belhártyából készített, ex vivo preparátumokon a mitokondriális légzési komplexek (I-IV) szelektív vizsgálatát tervezzük.

Az ízületi folyadékminta vétele a térd ötszöri lemosását és steril izolálását, valamint a punkció helyének 1 %-os Lidokainnal való infiltrálását követően történik. A 10 ml-es steril fecskendővel lebocsátott folyadékból 2 ml synovia vétele történik EDTA-s csőbe. Az ízületi folyadékmintákból gyulladásos citokin profilt határozunk meg (TNF-alfa, IL-1 alfa, IL-1 beta, IL-6...etc.), valamint HPLC-vel a kolin ill. acetilkolin tartalmát. A műtétet ill. térdpunkciót követően a betegektől vérmintát veszünk könyökhajlati vénából HPLC-vel kolin szint meghatározásra.

##### Mintavétel:

##### 1./ Ízületi belhártya (synovium)

Betegenként egy darab 5\*5 mm-es synovium minta vétele műtét közben, az ízület elülső tokjának ízfelszín felé eső részéből.

##### 2./ Ízületi folyadék(synovia)

Betegenként min. 2 ml synovia vétel térdpunkció során lebocsátott folyadékból.

##### 3./ Vénás vérminta

Könyökhajlati vénából 2 ml vénás vérminta vétel EDTA-s csőbe.

Az LSCM-re szánt szövetmintákból és a vérmintákból két órán belül megtörténik a feldolgozás, a rutin hisztológiára szánt mintákat protokoll és mintaszámmal ellátva metszetkészítésig formalinban tároljuk. Az ízületi folyadékmintákat fagyasztva tároljuk az ELISA vizsgálatig, amit megfelelő esetszám esetén végzünk (csoportonként min. 15-15 minta, párhuzamosokkal). A minták tárolása a SZTE ÁOK Sebészeti Műtéttani Intézet ilyen célra szolgáló hűtőiben történik, más kísérleti mintáktól a szokásos megkülönböztető jelzéssel - kísérlet protokollszáma - ellátva a csomagoláson.

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

A mintavétel a beavatkozáson túl nem jár szövődményekkel és fájdalommal. A lokális fertőzések veszélye minimális. A lehetséges nemkívánatos mellékhatásokat feljegyezzük a vizsgálat alatt. Mellékhatás jelentkezése esetén a szakma szabályai szerint a betegek azonnali orvosi ellátásban, a szükséges terápiában részesülnek!

A vizsgálat teljes időtartama alatt 24 óraban hívható vizsgálóorvos elérhetőségét minden résztvevő megkapja.

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

A vizsgálatban részt vevő betegek adatait mindvégig bizalmasan, a vonatkozó jogszabályoknak megfelelően kezeljük. A vizsgálat során feldolgozásra kerülő adatokat a *Betegadatlapon* kódolva tüntetjük fel, azokból a beteg személyazonossága nem állapítható meg.

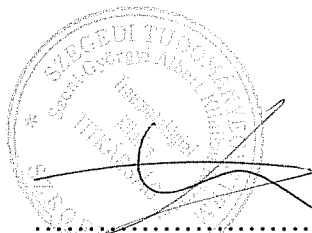
Amennyiben a vizsgálat eredményét orvosi szakkönyvben megjelentetjük, abban a résztvevők személyének azonosítására alkalmas adatot nem hozunk nyilvánosságra.

## **8. A kutatás során nyert adatok statisztikai feldolgozásának módszere**

Kapott eredményeinket statisztikai módszerekkel elemezzük (Vassarstat, SPSS: Paraméteres és nem paraméteres próbák).

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, 2014.04.23.



Prof. Dr. Varga Endre  
tanszékvezető egyetemi tanár  
- kutatásvezető

P.H.