

A 105948 azonosító számú, „Új non invazív markerek a gyulladásoos bélbetegségek diagnosztikájában és a relapsus előrejelzésében” című kutatás 2012.11.01 – 2016.01.31 közötti időszakra vonatkozó szakmai záróbeszámoló

A projekt egyik elsődleges célkitűzése a széklet calprotectin és széklet mátrix metalloproteáz (MMP)-9 koncentrációjának összehasonlítása volt különböző lokalizációjú Crohn és colitis ulcerosás betegekben, valamint a székletmarkerek koncentrációjának összevetése a betegek klinikai, endoszkópos és szövettani aktivitásával.

A széklet calprotectin és MMP-9 szerepét a klinikai, endoszkópos és szövettani aktivitások függvényében nem vizsgálták korábban a gyulladásoos bélbetegségek különböző típusaiban.

A székletmarkerek prediktív szerepének tisztázása a későbbiekben komoly diagnosztikus és terápiás előnyöket jelenthet a gyulladásoos bélbetegek gondozása során.

A vizsgálati periódus alatt a Szegedi Tudományegyetem I. sz. Belgyógyászati Klinikán gondozott Crohn betegségben vagy colitis ulcerosában szenvedő, illetve ileoanalís pouch műtéten átesett betegekben vizsgáltuk a széklet calprotectin és a széklet MMP-9 diagnosztikai szerepét. A vizsgálatba összesen 50 Crohn beteget, 54 colitis ulcerosás és 34 ileoanalís pouch műtéten átesett beteget vontunk be. Minden betegtől vér,- és székletmintát nyertünk a gyulladásoos laborparaméterek és a székletmarkerek meghatározása céljából. Minden betegnél alsó tápcsatornai endoszkópos ellenőrzésre és szövettani mintavételre is sort került. A klinikai, endoszkópos és szövettani aktivitást a betegségekben használt aktivitási pontrendszerekkel határoztuk meg. Klinikailag aktív Crohn betegség a betegek 38%-ban, aktív colitis ulcerosa 54%-ukban, pouchitis pedig a betegek 29%-ában igazolódott. Crohn betegségben a széklet calprotectin a betegség klinikai aktivitásával mutatott szignifikáns korrelációt. A calprotectin és az endoszkópos, valamint a szövettani aktivitási értékek között nem találtunk kapcsolatot. Érdekes módon a betegség különböző lokalizációit analizálva eredményeink azt mutatták, hogy a klinikai aktivitással mutatott korreláció vastagbél lokalizáció esetén volt kimutatható csak, ileocolon, illetve vékonybél lokalizáció esetén ez a korreláció már nem volt igazolható. A széklet MMP-9 szintje nem korrelált a Crohn betegség egyik aktivitás paraméterével sem. Colitis ulcerosában a széklet calprotectin a klinikai és az endoszkópos, míg az MMP-9 a klinikai, endoszkópos és szövettani aktivitással is szignifikáns összefüggést mutatott. Pouchitisben a calprotectin az endoszkópos és szövettani, az MMP-9 pedig mind a három aktivitási pontrendszerrel korrelált. Tanulmányunk volt az első, melyben az új aktivitási székletmarker, az MMP-9 diagnosztikai szerepét a gyulladásoos bélbetegségek

különböző típusaiban vizsgáltuk. Colitis ulcerosában és pouchitisben a széklet MMP-9 érzékenyebb diagnosztikai markernek bizonyult a calprotectinnel szemben. Cuffitisben nem találtunk összefüggést a székletmarkerek és a gyulladás között.

Eredményeinket két impakt faktoros folyóiratban sikeres publikáltuk, melyek együttes impakt faktora 8,774. A kapott eredményeket 2014-ben nemzetközi gasztroenterológiai konferencián (UEGW), valamint a Magyar Gasztroenterológiai Társaság 56. Nagygyűlésén szóbeli előadás formájában prezentáltuk.

A kutatási periódus során célunk volt meghatározni az infliximab és az infliximab elleni antitest koncentrációt infliximab kezelésben részesülő Crohn és colitis ulcerosás betegeinkben.

Vizsgálatunk ezen részébe olyan, a Szegedi Tudományegyetem I. sz. Belgyógyászati Klinikán gondozott, infliximab kezelésben részesülő gyulladásos bélbetegségben (Crohn betegség, colitis ulcerosa) szenvedő betegekből vizsgáltuk a szérumban TNF- α , infliximab, valamint az anti-infliximab antitest szintet, akikben a kezelés kapcsán hatásvesztés alakult ki, allergiás reakció vagy mellékhatás lépett fel. A projekt aktualitását az a tényező adta, miszerint a jelenleg egyik leghatékonyabb, a betegség természetes lefolyását megváltoztatni képes biológiai terápia az esetek 40%-ban hatásvesztés miatt felfüggesztésre kerül. A szérumban TNF- α , infliximab, valamint az anti-infliximab antitest szintek meghatározása segítséget nyújthat a hatásvesztés előrejelzésében. A projekt során 19 Crohn és 17 colitis ulcerosás betegtől vettünk vért a fenti paraméterek meghatározása céljából és adataikat retrospektív módon dolgoztuk fel. Kontrollcsoportként 31 remisszióban levő Crohn, illetve colitis ulcerosás beteg vérmintáját használtuk fel. Anti-infliximab antitest 14 betegben volt kimutatható. Közülük 2 betegben alakult ki mellékhatás, 3 betegben allergiás reakció, 5 betegben pedig hatásvesztés jött létre. Statisztikai vizsgálat során a szérumban infliximab szint elvágópontja 3.01 $\mu\text{g/ml}$ -re esett. Alacsonyabb anti-TNF szint mellett az antitest pozitivitás aránya szignifikánsan magasabbnak bizonyult. A TNF- α szint és az antitest szintek között szintén korrelációt tapasztaltunk. Az anti-TNF szint és a korábbi biológiai kezelés között mutattunk ki összefüggést. A konkomittáló immunszuppresszív terápia nem volt hatással az antitest képződésre. Eredményeinket a Belorvosi Archívum és a World Journal of Gastroenterology folyóiratába (IF: 2,43) publikáltuk. Az eredményekre alapozva a jövőben célunk a bél nyálkahártya és a széklet TNF- α és infliximab koncentrációjának meghatározása a kezelés kimenetelének előrejelzése céljából.

A pályázat utolsó évében vizsgálatainkat kibővítettük a Crohn betegség és a colitis ulcerosa kezelésében a 2014-ben bevezetett és törzskönyvezett infliximab biohasonló CT-P13 szérum és antitest szintjének vizsgálatával. Az infliximab biohasonló CT-P13 magyarországi bevezetését követően az első között számoltunk be az indukciós kezelés hatékonyságáról Crohn és colitis ulcerosás betegekben. Eredményeink, melyeket 2015-ben impakt faktoros folyóiratban publikáltunk, alátámasztották a CT-P13 hatásosságát és biztonságosságát a fenti indikációs körökben. A szérum infliximab szintek nem különböztek a kezelésre reagáló, illetve remisszióba került betegek között, azonban szignifikánsan magasabbak voltak a terápiára nem reagáló betegek szérumszintjeihez, illetve az antitest pozitív esetekhez képest. Eredményeinket 2015-ben impakt faktoros folyóiratba publikáltuk (IF: 3,74). Egy multicentrikus vizsgálat keretén belül a CT-P13 nyálkahártya gyógyulásra gyakorolt hatását is megvizsgáltuk az indukciós és az egy éves kezelést követően. Eredményeinkről nemzetközi konferencián számoltunk be poszter prezentáció formájában, az elkészült publikáció pedig jelenleg revízió alatt áll egy 6,234 IF-os nemzetközi folyóiratban.

A projekt célkitűzései között szerepelt továbbá a széklet calprotectin szintjének meghatározása egészséges terhesekben.

A vizsgálati periódus alatt a széklet calprotectin szint változását vizsgáltuk nemcsak egészséges, hanem gyulladáson alapuló bélbetegségben szenvedő terhesekben egyaránt. A gyulladáson alapuló bélbetegség (IBD) monitorozása terhesség esetén nehézségekbe ütközik, hiszen a klasszikus vizsgáló módszerek invazivitásuk, vagy sugárterhelésük miatt nem javasoltak. A széklet calprotectin az egyik legelőnyösebb non-invazív marker a gyulladáson alapuló bélbetegségek aktivitásának nyomon követésében, de keveset tudunk arról, hogy értéke módosul-e a terhesség következtében létrejövő élettani változások miatt. A vizsgálatba 111 terhes nőt vontunk be (48 egészséges, 40 a terhesség alatt relabáló és 23 remisszióban levő IBD-s beteg). Eredményeink alapján a széklet calprotectin szintje egészséges terhesekben nem különbözött a kontrollcsoportéhoz képest. A remisszióban levő IBD-s terhesekben a széklet calprotectin magasabbnak bizonyult az egészséges terhesekhez viszonyítva, azonban szignifikánsan magasabb széklet calprotectin átlagértéket detektáltunk aktív IBD-s terhesekben a remisszióban levő betegcsoportéhoz viszonyítva.

Eredményeink lehetővé teszik a gyulladáson alapuló bélbeteg terhesek noninvazív diagnosztikai eszközeinek bővítését a széklet calprotectin szint meghatározásával. „Pregnancy does not affect fecal calprotectin concentrations in healthy pregnant women” címmel 2014-ben a nemzetközi UEGW konferencián poszter prezentáció formájában, 2015 májusában pedig

“Széklet calprotectin terhességben és alkalmazása IBD-ben,, címmel szóbeli előadás formájában a Magyar Gasztroenterológiai Társaság 57. Nagygyűlésén mutattuk be munkánkat. Eredményeink publikációja impakt faktoros nemzetközi folyóiratba jelenleg folyamatban van.

A projekt célkitűzései között szerepelt továbbá a széklet calprotectin, a széklet MMP-9 és az anti TNF- α kezelés kimenetele közötti esetleges korreláció vizsgálata.

A fenti célkitűzéshez szükséges mintagyűjtés a tervezettnél hosszabb időt vett igénybe, a székletmarkerek és az anti TNF- α szintek ELISA meghatározásai folyamatban vannak. A projekt ezen részéből tervezett közlemény publikációjára a 2016-os évben várhatóan sor kerül.

A fenti célkitűzések teljesítése során több olyan vizsgálati terv és újabb célkitűzés is felmerült, melyek a projektben eredetileg nem szerepeltek, azonban annak eredeti célkitűzéseivel szorosan kötődtek.

A projekt ideje alatt vizsgáltuk az egy éves biológiai terápiát követően klinikai, illetve endoszkópos remisszióba került Crohn, és colitis ulcerosás betegekben a relapszusok arányát és annak prediktorait. Crohn betegségben a betegek 45%-ban volt szükség a kezelés újraindítására átlagosan 6 hónappal a leállítást követően. Az újraindítás prediktoraiként a megelőző biológiai terápiát és dózis intenzifikációt tudtuk megjelölni. Colitis ulcerosás betegekben az újraindítás a betegek 35%-ában volt szükséges. A statisztikai elemzés egyetlen prediktív markerként a megelőző biológiai kezelést igazolta az újraindítás hátterében. Az egy éves kezelési periódus végére nyálkahártya gyulladást elérő betegek nagy részében újra kellett indítani a kezelést mely arra utal, hogy az egy év után elért endoszkópos remisszió nem jelzi előre a tartós klinikai remissziót. A témából három impakt faktoros közlemény született, melyek összesített impakt faktora 10,067.

Vizsgáltuk továbbá az immunszuppresszív kezelés alatt álló gyulladásos bélbetegekben az immunszuppresszió influenza védőoltás hatékonyságára és a sejt-mediált immunválaszra gyakorolt hatását. A celluláris immunválasz felmérésére ELISA módszerrel történt interferon γ , TNF- α és interleukin-2 meghatározás. Eredményeink, melyek egy multicentrikus tanulmány részét képezték igazolták az influenza A és B altípus postimmunizációs titereinek szignifikáns emelkedését a split vakcinák beadását követően. Az influenza B ellen termelt antitest titerek szintén magasabb értéket mutattak a split vakcina beadását követően és TNF- α kezelésben részesülő betegek esetében. Az interleukin 2 szérumszint jelentős csökkenést

mutatott a védőoltás felvételét követően. Eredményeinket szintén impact faktoros folyóiratban publikáltuk.

A vizsgálati periódus alatt egy multicentrikus, prospektív tanulmány részeként felmértük a humán TNF- α gátló adalimumab hatékonyságát colitis ulcerosában. Eredményeink azt mutatták, hogy a betegek 75%-ában megfelelő terápiás válasz érhető el a kezeléssel a terápia 12. hetére, míg egy éves kezelés során a hosszú távú klinikai válasz aránya 49%-ra csökken. Nyálkahártya gyógyulás a betegek 48%-ban volt igazolható az endoszkópos vizsgálat során az egy éves kezelés végére. Az egy éves vizsgálati periódus alatt a betegek 5,4%-a kényszerült műtéti megoldásra. Eredményeinket impact faktoros lapban publikáltuk 2015-ben (IF: 6,234).

A vizsgálati periódus alatt 2015 tavaszán került sor pénzügyi átcsoportosításra. Az átcsoportosításra azért volt szükséges, mert az infliximab és infliximab elleni antitestek, valamint a székletmarkerek ELISA-val történő meghatározásának költségei a projekt ideje alatt lényegesen megemelkedtek, valamint, mert lehetőségünk nyílt a Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinika Laboratóriumával együttműködve az ELISA méréseket ott elvégezni. Utóbbi miatt a tervezett ELISA olvasó és a rázó vízfürdő megvásárlására nem volt szükség, a beszerzett fagyasztószelektény ára pedig a vártnál alacsonyabb lett. Így lehetőségünk nyílt több beteget bevonni a vizsgálatba és szélesíteni a projekt tervet. Továbbá, a külföldi utazás, külföldi konferencián való részvétel dologi kiadásai a farmakológiai cégek nem várt, nagylelkű támogatásai miatt a tervezettnél kevesebb összeget vettek igénybe, annak ellenére, hogy a pályázatban megnevezett külföldi konferenciákon minden évben képviseltük magunkat és beszámoltunk a projekt új eredményeiről. A közlemények publikációs díjai, valamint az időközben javításra szoruló számítástechnikai berendezések költsége azonban szintén meghaladta a tervezettet. Az átcsoportosítási kérelem pozitív elbírálásban részesült, a költségtervtől való ezen eltérés a vizsgálatok menetét és sikerességét nem befolyásolta, a projekt eredményesen zárult.