The overall goal of this project is to identify, verify and apply biomarkers for the early diagnosis or risk assessment of cardiovascular diseases. We hypothesized that the combination of the commonly used diagnostic and prognostic markers with the circulating extracellular vesicle pattern and the data analysed by computer tomography will result a more sensitive method for the risk assessment of cardiovascular diseases.

**Szinergia féléves összegző űrlap**

**A támogatott szinergia program címe:**

A CRP és az extracelluláris vezikulák (EV-k) kölcsönhatásának rendszerszemléletű megközelítése a CVD prognosztikájában felhasználható új biomarkerek azonosítása céljából.

**A támogatott szinergia program szakmai fókuszpontja:**

A tervezett vizsgálatok a „Jelátviteli fehérjék szerepe gyulladásos és daganatos megbetegedésekben” című témához kapcsolódnak.

A tervezett szinergia pályázatban célként tűztük ki a CVD (cardiovascularis betegségek) prognosztikájában felhasználható új biomarkerek azonosítását. Hipotézisünk szerint a CVD diagnosztikájában / prognosztikájában használt gyulladásos markerek és a keringő extracelluláris vezikulák (EV-k) együttes vizsgálata, összekapcsolva a képalkotó eljárásokkal detektált paraméterekkel, a jelenleg alkalmazott kockázati besorolásoknál nagyobb érzékenységű módszer kifejlesztését eredményezi.

**A szinergia program keretében együttműködő partnerek személyes adatai:**

név: Dr Maurovich-Horvat Pál

tudományos fokozat: PhD

jelenlegi tudományos besorolás: adjunktus; az MTA-SE „Lendület" Kardiovaszkuláris Képalkotó Kutatócsoport vezetője

e-mail elérhetőség: p.maurovich-horvat@cirg.hu

név: Dr Pállinger Éva

tudományos fokozat: PhD

jelenlegi tudományos besorolás: docens; SE GSI FACS Laboratórium vezetője

e-mail elérhetőség: eva.pallinger@gmail.com

**A MedInProt programnak köszönhetően elkészült tudományos közlemények:**

Tekintettel arra, hogy a vizsgálati minták gyűjtéséhez szükséges etikai engedélyt (SE-TUKEB: 192/2015) 2015. október 5-énadták ki, az azóta eltelt időben még nem gyűlt össze annyi vizsgálati eredmény, amely elegendő lenne tudományos közlemény megírásához.

**Fejtsék ki pontosan, hogy a kutatási együttműködésük hogyan kapcsolódik az alább megadott MedinProt fókuszpontok legalább egyikéhez *(max. 300 szó).***

A CVD (szív- és érrendszeri betegség) egy heterogén betegségcsoport, mely a 60. életévét betöltött populáció túlnyomó többségét érinti és a fejlett országokban vezető halálokként ismert. Mivel kialakulásában jelentős szerepe van a gyulladásnak és a szénhidrát-, ill. a zsíranyagcsere zavarainak, diagnosztikájában és prognosztikájában, sőt kockázatának megítélésben is számos gyulladásos és metabolikus paramétert használnak. Az egyik legérzékenyebb gyulladásos marker a C-reaktív protein (CRP), melynek szérum koncentrációja szoros összefüggést mutat több, a szív- és érrendszeri betegségek közé sorolt kórkép kialakulásával (myocardialis infarctus, ischaemias stroke, perifériás artériás megbetegedések). A gyulladásos érbetegségek progressziójában egyre nagyobb szerepet tulajdonítanak az extracelluláris vezikuláknak (EV) is. A keringő EV-k kockázati értéke még nem egyértelmű, de könnyen elképzelhető, hogy a gyulladásos paraméterek és az EV-k interakciói jelentős tényezői a patomechanizmusnak.

Korábbi vizsgálatainkkal igazoltuk, hogy az EV-k képesek megkötni a H-faktort és a humán IgG-t, ill. az IgM-t. (*Medinprot Szinergia I: EV-k* [*komplementrendszerrel való kapcsolatának vizsgálata*)](http://medinprot.chem.elte.hu/hu/palyazok/extracellularis-vezikulak-komplementrendszerrel-valo-kolcsonhatasanak-vizsgalata). Mivel a CRP képes kötődni az IgG és IgM antitestekhez, sőt komplement aktiváló hatású, vizsgálni kívánjuk a CRP és az EV-k kapcsolatát. Ennek jellemzésére a következő kérdéseket tettük fel: 1) Van-e kompetíció a keringő CRP molekulák és a keringő EV-k között az ellenanyagok, ill. a komplement faktorok kötését illetően? 2) Befolyásolja-e a CRP az EV-k komplement rendszerre gyakorolt hatását?

Más oldalról megközelítve a kérdést, a gyulladásos markerek és a keringő EV-k együttes vizsgálatát a képalkotó eljárásokkal detektált paraméterekkel kívánjuk összekapcsolni, egy érzékenyebb kockázatbecslési rendszer kialakításának reményében.

Alkalmazandó módszerek:

Laboratóriumi módszerek: 1) Gyulladásos markerek monitorozása vérből; 2) Keringő EV-k jellemzése; 3) Vérből izolált EV-k funkcionális hatásainak vizsgálata *in vitro* kísérleti rendszerekben.

Képalkotó eljárások: A vizsgáltba a SE Szív- és Érgyógyászati Klinikájára mellkasi panaszok miatt koronaria CT angiográfia (CTA) vizsgálatra érkező betegek kerülnek beválasztásra. A koronaria CTA vizsgálatokat korszerű, 256-szeletes CT (Philips Brilliance, iCT, Best, The Netherlands) segítségével végezzük, amely lehetővé teszi a koszorúerek nem invazív ábrázolását.

**Foglalják össze közérthetően szinergia programjuk, és közös munkájuk eddigi eredményeit *(max. 300 szó).***

1. Flow cytometriás komplement mediálta cytotoxicitás vizsgálati módszer (CDC) kifejlesztése
2. EV-k CDC-re gyakorolt hatásának vizsgálata
	1. EV jelenlétében a NHSZ (normál humán szérum) indukálta CDC mértéke alacsonyabb
	2. Ha az EV-kat előinkubáljuk NHSZ-mal, akkor a CDC mértéke tovább csökken.

Az EV felszínén aktiválódik a komplement rendszer, ezért csökken a komplement komponensek koncentrációja, így kisebb a sejtpusztulás. Kompetíció van az EV-k és a célsejtek között a komplement kötést illetően.

1. CRP CDC-re gyakorolt hatásának vizsgálata
	1. CRP jelenlétében az NHSZ indukálta CDC mértéke alacsonyabb

Kompetíció van az CRP és a célsejtek között a komplement kötést illetően, ezért a CRP jelenlétében kisebb a sejtpusztulás.

1. EV-k CRP kötésének vizsgálata
	1. A rekombináns CRP kötődik az EV-khoz.
	2. A rekombináns CRP koncentrációjának változtatása (a kockázatbecsléshez használt koncentráció tartományok) nem befolyásolta a CRP kötődését.
2. A CRP EV-k immunglobulin-kötő képességére gyakorolt hatásának vizsgálata
	1. CRP-vel előkezelt EV-k jobban kötik az IgG-t
	2. A CRP-t és az IgG-t egyidejűleg adva az EV-khoz, az IgG kötődés mértéke alacsonyabb, ami a CRP és az EV közti kompetícióra utal.
	3. A CRP kezelés (akár egyidejű, akár az EV-k előkezelése) csökkenti az IgM EV-khoz történő kötődésének mértékét.
3. Hyperglycaemiás környezetben tartott sejtek felülúszójából izolált EV-k immunoglobulin kötő képességének vizsgálata CRP jelenlétében
	1. Magasabb glükóz koncentráció mellett több EV köt IgG-t, de a felszínen megkötött IgG molekulák száma kevesebb.
	2. CRP és IgG együttes hatására az EV-k kevesebb IgG-t kötnek meg (kompetíció; lsd. 5.b pont), de ezt a jelenséget nem befolyásolja a sejttenyésztő médium glükóz koncentrációja.
4. CVD-ben szenvedő betegek keringő EV mintázatának jellemzése FACS módszerrel
	1. A TUKEB etikai engedélyt 2015. október 5-én adták ki, ezért a jelentési időszakig 5 beteg vizsgálati mintája került feldolgozásra.
5. Adatbázis létrehozása (klinikai paramétereket és a képalkotó eljárások eredményeit tartalmazó adatbázis kidolgozása és a betegek beválogatását követően az adatok feltöltésének megkezdése.)

**Értékeljék és véleményezzék eddigi közös munkájukat (sikereiket, nehézségeiket, illetve azon ötleteiket, javaslataikat, amelyeknek köszönhetően a következő programok hatékonysága javulhat) *(max. 200 szó).***

Pállinger Éva: Orvosként a kutató munka eredményessége szempontjából rendkívül fontosnak tartom, hogy a hipotézis felállításakor a klinikum és az alapkutatás minél közelebb kerüljön egymáshoz. Jelen pályázat hozzásegít ahhoz, hogy a korábban, alapkutatásban alkalmazott laboratóriumi módszereket egy új szempontból megközelítve, a gyakorlatban alkalmazható (klinikailag releváns) kérdés megválaszolásához idomítsam.

Maurovich-Horvat Pál: Klinikánkon évente több mint 2000 koszorúér CTA vizsgálatot végzünk, ami egyedülálló kutatási lehetőséget teremt. A szinergia program lehetővé teszi, hogy a transzlációs kutatás során felmerült kérdéseink megválaszolásában egy nemzetközileg is ismert és elismert alapkutatást végző laborral dolgozhassunk együtt. A közös munka lehetőséget teremt különböző tudományok határterületein végzett kutatásra, izgalmas tudományos kérdések megválaszolására.

**Szabadon fogalmazzák meg a MedInProt kapcsán támogató és/vagy kritikus észrevételeiket. *(max. 200 szó)***

Pállinger Éva: A novemberi MEDINPROT konferencián való részvétel rendkívül tanulságos volt számomra. A különböző szakterületek képviselőinek előadásai révén elsősorban egy nézőpontbeli változást (a nézőpont kitágulását) tapasztaltam meg. Úgy gondolom, hogy a szakemberképzés bizonyos útvonalra tereli a gondolkodást, ami természetesen jó, mert irányított, másrészt rossz, mert beszűkítheti a gondolkodást. Véleményem szerint a különböző szakterületek közös munkája nemcsak a szakmai tudás összeadódását eredményezi, de nagymértékben innovatív is.

Maurovich-Horvat Pál: Hiánypótló kezdeményezésnek tartom a MEDINPROT szinergia programot. Rengeteg új lehetőséget teremt transzlációs kutatásra. Az alapkutatók és a klinikai kutatók kollaborációja nem csupán a nézőpont különbözősége, hanem az eddig szerzett különböző kutatási tapasztalatok következtében is más útra terelhetik a kutatás irányát. Hatalmas lehetőség rejlik ezen új kutatói hálózatok létrehozásában.