

# Projektalapú mintagyűjtéstől a biobankig

Baranyai Zsolt dr.<sup>1,6</sup> ■ Mersich Tamás dr.<sup>1</sup> ■ Dede Kristóf dr.<sup>1</sup>  
Besznyák István dr.<sup>1</sup> ■ Zaránd Attila dr.<sup>1</sup> ■ Teknős Dániel dr.<sup>1</sup>  
Nagy Péter dr.<sup>1</sup> ■ Salamon Ferenc dr.<sup>2</sup> ■ Nagy Pál dr.<sup>2</sup> ■ Nagy Zsolt dr.<sup>2</sup>  
Kótai Zsuzsanna dr.<sup>3</sup> ■ Szász Marcell dr.<sup>4</sup> ■ Lukács Lilla dr.<sup>5</sup>  
Szállási Zoltán dr.<sup>7</sup> ■ Jósa Valéria dr.<sup>6</sup> ■ Jakab Ferenc dr.<sup>1</sup>

Fővárosi Önkormányzat Uzsoki Utcai Kórháza, <sup>1</sup>Sebészet-Érsebészeti Osztály, <sup>2</sup>Patológiai Osztály,

<sup>3</sup>Fül-Orr-Gégészet, Fej-Nyak Sebészeti Osztály, Budapest

Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar,

<sup>4</sup>II. Patológiai Intézet, <sup>5</sup>Radiológia, központi gyakornok,

<sup>6</sup>Tumorgenetika Biobank Klaszter, Budapest,

<sup>7</sup>Dana Farber/Harvard Cancer Center, Boston

A kutatócsoport sebészeti műtétek során eltávolított daganatos szövetekből vesz ischaemiás időn belül molekuláris genetikai vizsgálatokra mintákat, amelyeket folyékony nitrogénben tárol. A betegek klinikai adatait egy saját fejlesztésű informatikai rendszerben tárolja. A vizsgálatokba bevont betegeket egy erre a célra létrehozott, nem OEP-támogatott ambuláns rendelésen követi. A szövettani mintákkal és a követési adatokkal molekuláris genetikai laboratóriumokkal alakít ki kutatások céljából együttműködések. *Orv. Hetil.*, 2011, *152*, 606–609.

**Kulcsszavak:** biobank, szövetgyűjtemény, sebészi minta, követés

## From project based sample collection to a biobank

The research group takes samples for molecular genetical examinations from tumors removed during operations within ischemic time interval. Samples are stored in liquid nitrogen. Clinical data of these patients are recorded in an informatics system developed by the group. Patients are followed in an out-patient clinic set up for this purpose not financed by the National Health Insurance Fund. Tissue samples and follow up data are used to cooperate with molecular genetical laboratories. *Orv. Hetil.*, 2011, *152*, 606–609.

**Keywords:** biobank, tissue collection, surgical sample, follow up

(Beérkezett: 2011. február 3.; elfogadva: 2011. február 22.)

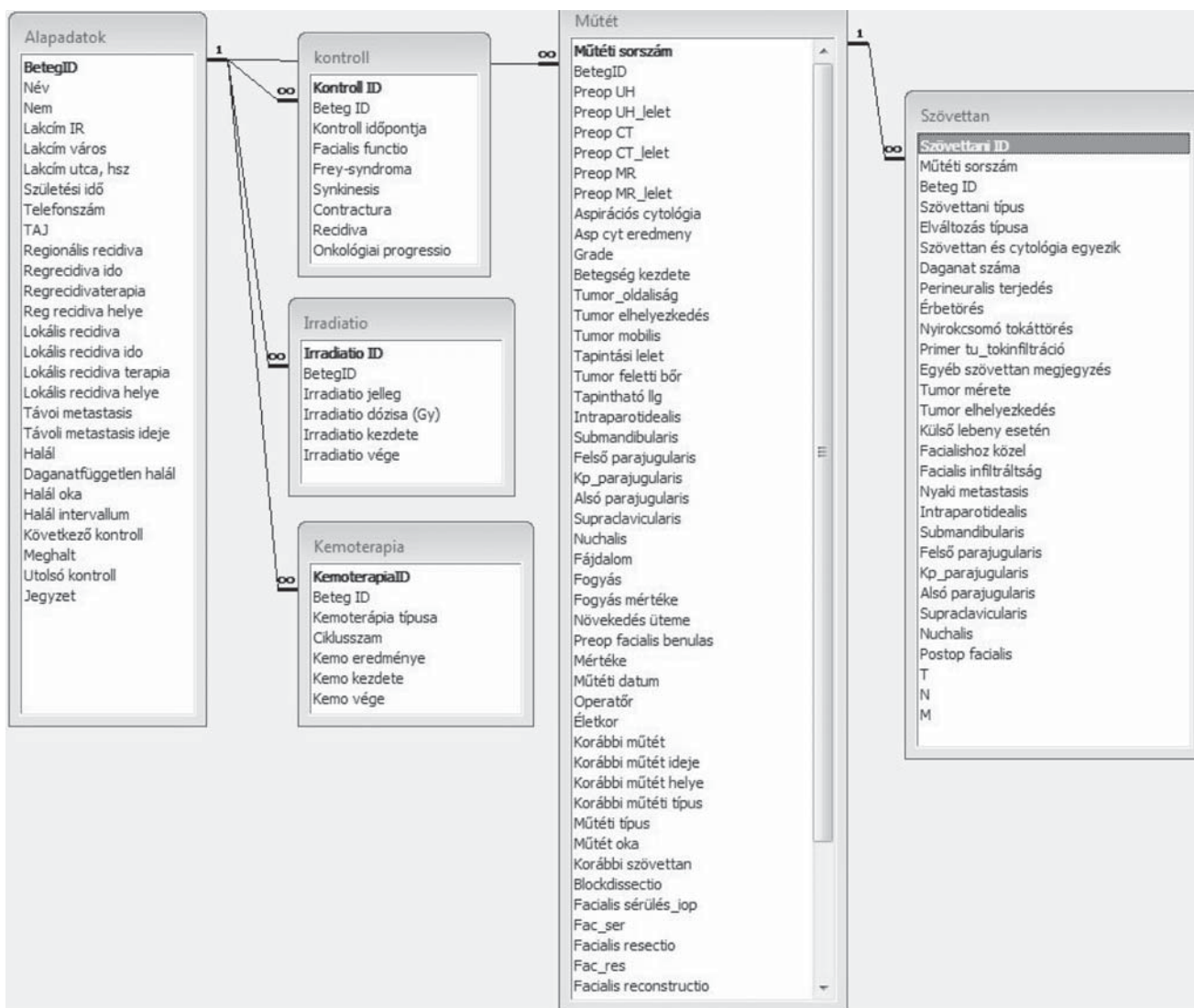
### Rövidítések

ETT-TUKEB = Egészségügyi Tudományos Tanács Tudományos és Kutatásetikai Bizottság; IKEB = Intézményi Etikai Bizottság

A biobankokat a *Time* magazin abba a tíz ötletbe sorolta be, amely megváltoztatta a világot [1]. A genomikai kutatások és a biotechnológiai fejlesztések alapját ugyanis a szövetgyűjtemények alkotják. Az orvosi biológiai kutatások fontos része az emberi génállomány vizsgálata, amely újabb és újabb lehetőséget nyit a diagnosztika, a prediktív tényezők, a biomarkerek megismerése, a farmakogenetika, a gyógyszerkutatás területén.

Segít megérteni a betegségmechanizmusokat, ezáltal lehetőség nyílik az esetleges megelőzésre, a diagnózis felállítására, a prognózis meghatározására és magára a kezelésre. Ahhoz, hogy a betegségek elleni küzdelem hatékony legyen, a kutatásokhoz szükség van megfelelő mennyiségű szövetmintára és klinikai adataira. Számos országban, mint például Nagy-Britanniában [2], Izlandon [3], Svédországban [4], Franciaországban [5] vagy Ausztriában [6] ezt felismerve országos biobank-hálózatokat szerveztek. Ezek mellett az Európai Unió is létrehozta a saját biobank-hálózatát [7].

A Fővárosi Önkormányzat Uzsoki Utcai Kórházának Sebészeti-Érsebészeti Osztályán 2004 májusa óta gyűjtünk sebészeti műtétek során eltávolított daganatos



1. ábra | Az általunk kifejlesztett informatikai rendszer

szövetekből mintákat. A mintagyűjtéshez egyedülálló klinikai követést párosítunk. Az általunk alkalmazott munkafolyamatok az évek során sokat csiszolódtak, több részre oszthatók.

### Betegdokumentáció, klinikai adattárolás

A mintavétel és a -tárolás, valamint az adatok gyűjtésének első lépése a beteg felvilágosítása és bejegyzésének dokumentálása, amely során a beteg a kezelőorvosával együtt kitölti a klinikai adatlapot. A klinikai adatok két formában kerülnek rögzítésre; az ETT-TUKEB által elfogadott case report formában, papíralapon, valamint egy általunk kifejlesztett informatikai rendszerben digitális módon. A papíralapú dokumentáció betegenként külön kerül archiválásra. A könnyebb statisztikai feldolgozhatóság érdekében a betegek klinikai adatai egy általunk kifejlesztett MS Access-alapú komplex, kórházi

hálózatba integrált informatikarendszerben is rögzítésre kerülnek, amely az egyes betegekhez tartozó információkat kódolt formában teszi összevethetővé. A beteg személyes adatai ezekkel soha nem asszociálódnak, csak statisztikai tényezőként szerepelnek a rendszerben. Informatikai rendszerünket többlépcsős adatvédelmi rendszerrel láttuk el. A program széles körű adatlekérdezést tesz lehetővé. Naponta biztonsági mentés történik (1. ábra).

### A daganatos mintavétel technikája

A daganatos szövetminta vételének forrása a műtétek során eltávolított szerv vagy szervrészlet. A mintavétel a szervezetből már eltávolított szerv, illetve szervrészletből történik steril körülmények között. Az eljárás semmiképpen nem okozhat tumorszóródást, és nem veszélyeztetheti a szövettani diagnózis lehetőségét. A kutatási

1. táblázat | Colorectalis carcinoma esetén használt követési protokollunk

Vizsgálat	Hónapok											
	3.	6.	9.	12.	15.	18.	21.	24.	30.	36.	42.	48.
Anamnézis	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Fizikális vizsgálat	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Labor, széklet, vér	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Mellkas-röntgenvizsgálat		X		X		X		X		X		X
UH/CT/MR		X		X		X		X		X		X
Endoszkópia (irrigoszkópia)				X				X				X
Onkológiai kezelés követése (típus, széria, időtartam)												
	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

programok céljainak megvalósításához szükséges RNS-, DNS- és fehérjeminták biztosításának feltétele, hogy a sebészileg eltávolított daganatokból 15–30 percen belül történjen a mintavétel.

Mivel alapelvünk, hogy a feldolgozásra szánt minta vétele a patológiai rutindiagnosztikai feldolgozást nem befolyásolhatja, ezért patológusokkal egyeztetett módon csak nagyméretű tumorok esetében vesz mintát a sebész a műtői traktusban. Az összes többi esetben patológus szakorvos végzi a mintavételt, amelyhez a műtéti speci-  
meneket ischaemiás időn belül kell eljuttatnunk hozzá. Szintén alapelvünk, hogy a kutatási célból konzervált minták feldolgozására addig nem kerülhet sor, amíg az eltávolított daganat patológiai diagnosztikai feldolgozása le nem zárult.

Az eltávolított daganatos szervből három mintát veszünk, amelyet kiegészítünk az ugyanabból a szövet daganatmentes részéből vett két mintával. Ez utóbbiak jelentik a kontrollt a molekuláris genetikai feldolgozás-  
hoz. A minták mérete minimum 100 mg (5 mm<sup>3</sup>), optimális esetben 0,5–1 gramm (1–2 cm<sup>3</sup>), maximum 10 gramm (2–3 cm<sup>3</sup>). Amennyiben a daganat, valamint az eltávolított szerv mérete lehetővé teszi, akkor egy betegből több mintavétel is történik. A mintát azonnal folyékony nitrogénben fagyasztjuk le, és a minta nagysá-  
gának megfelelő steril fagyasztó ampullában tároljuk. Pseudonimizált tárolást végzünk, mintáink kódot kapnak.

### Betegkövetés

Azon betegeinket, akikből mintavétel történt, a tumoros alapbetegségek szerinti protokoll alapján követjük. Ez független a sebészi és onkológiai kontrolluktól, azokat nem zavarhatja, azonban tevékenységeit figyeli, ösz-  
szegzi. A követés egy speciális ambuláns rendelés formájában történik, amelyen orvos és adminisztrátor vesz részt. A klinikai adatokat az általunk kifejlesztett infor-  
matikai rendszeren rögzítjük. A rendszer automatikusan adja a következő kontroll időpontját. A betegek értesí-  
tése telefonon, illetve postai úton történik (1. táblázat).

### Kutatási kooperáció

Partnereinket hosszas előkészítés és egyeztetés után vá-  
lasztjuk ki. Az együttműködési megállapodás megkötése előtt bekérjük az adott kutatócsoport addigi tudomá-  
nyos aktivitásának adatait, összefoglalót a kutatási témá-  
ról, valamint a konkrét kutatási tervet. Ezek birtokában döntünk a kooperáció létrejöttéről. A konkrét kooperá-  
ció természetesen csak ETT-TUKEB engedély birtoká-  
ban indulhat el.

### Etikai engedélyek

Tevékenységünk során a genetikai törvény [8] szabá-  
lyait tartjuk szem előtt. Minden kooperációban végzett kutatásunkhoz ETT-TUKEB engedéllyel rendelkezünk, amelyeket a kórházi IKEB is jóváhagyott. A betegek az ETT-TUKEB által elfogadott beleegyező nyilatkozatot töltik ki és írják alá. A betegkövetésnek köszönhetően betegeink nemcsak a mintavétel előtt kapnak orvosi fel-  
világosítást, hanem folyamatosan lehetőségük van kérdé-  
seket feltenniük. Természetesen a beteg a beleegyezését bármikor visszavonhatja, a követést bármikor megsza-  
kíthatja. A betegbeválasztásnak két kritériuma van: a 18 év feletti életkor, illetve az aláírt beleegyező nyilatkozat. A hivatalos etikai dokumentációkon kívül a betegeket különféle tájékoztató broszúrákkal is ellátjuk.

### Eredményeink

2004 májusa óta követjük azon betegeinket, akikből mintavétel történt. Így nem egy betegünkönél 6–7 éves a műtét utáni klinikai kórtörténet, amelyet ismerünk. Je-  
lenleg 1215 beteg (591 férfi, 624 nő) szerepel az adat-  
bázisunkban. Az idők folyamán 248 beteg esett ki a rendszerünk-  
ből, 355 páciensről biztosan tudjuk, hogy elhunyt; 612 beteg azonban rendszeresen jár kontrollra.

Jelenleg 11 kutatócsoporttal van kooperációnk. Két hazai orvosi egyetem, több országos intézet mellett bostoni (Harvard), londoni és koppenhágai molekulá-  
ris genetikai laboratóriumokkal építettünk ki munka-

kapcsolatot. Sikeres kooperációinkat közös publikációk és pályázatok fémjelzik.

## Következtetések

Egy tudományos biobank kialakításakor több lényeges kihívással kell szembenézni. Ilyen a megfelelő tervezés, az összehangolt eljárásrend kialakítása, a fenntarthatóság és ezek etikai, jogi és társadalmi vonatkozásai.

Csak megfelelő minőségű szöveti mintáktól és jól dokumentált, racionálisan összeállított klinikai adatbázistól lehet megfelelő kutatási eredményeket várni. Ehhez megfelelő kísérleti tervezés szükséges, amelyhez multidiszciplináris csapat érdemes felállítani. A team tagjai között klinikai orvosnak (sebész, onkológus, klinikai genetikus), patológusnak, molekuláris biológusnak, statisztikusnak, bioinformatikusnak kell lennie. Egy ilyen csapat gondosan meg tudja tervezni a minta- és adatgyűjtést. A jövő orvosi kutatásai a meglévő tudományos kérdések további finomítására fognak irányulni, ezekhez azonban a részletesebb klinikai információk nélkülözhetetlenek.

A kutatásokhoz általában nagyszámú, statisztikailag kezelhető információra van szükség, így ahhoz, hogy a konkrét tudományos projekt el tudjon indulni, a szöveti mintákat és a szükséges klinikai adatokat gyakran hosszú ideig kell gyűjteni. Különösen akkor, ha a mintagyűjtéshez tartós utánkövetés is társul. Az évekig tartó gyűjtési folyamat ilyenkor akár évtizedes is lehet. Ehhez mindenképpen hosszú távú elkötelezettség kell. A mintagyűjtés idejének elhúzódása viszont a veszéllyel jár, hogy idővel új tudományos ismeretek jelennek meg, amelyek birtokában értelmetlenné válhat a tervezett tudományos projekt.

Erre a problémára a mi esetünkben is megoldást jelent a projektalapú mintagyűjtés átalakítása szisztematikus gyűjtésre. Ez utóbbi során szintén műtéti maradványszöveteket gyűjtenek, azonban a gyűjtemény nem adott tanulmányok céljára jön létre, nem korlátozódik egy-két szervre vagy betegségre, hanem igyekszik az összes potenciálisan rendelkezésre álló mintára kiterjedni. Ezen mintagyűjtemények óriási előnye, hogy általuk értékes idő takarítható meg. Hátránya a fenntartási költségek növekedése. A követés is nehezebbé válik, mert nem ismert a projektek egyértelmű adatszüksége.

Nagyszámú mintát igénylő projekt esetében hatékony lehet, ha több mintagyűjtő hely fog össze. Ehhez azonban arra van szükség, hogy egyforma eljárást használjanak, illetve állandó legyen a minőség. Ezért előbb-utóbb minden biobank nemzetközileg elfogadott eljárásokat, szabványokat vezet be [9], minőség-ellenőrzést végez és komoly hangsúlyt helyez a megfelelő informatikai

rendszer kiépítésére. A minták így cserélhetővé is válnak az egyes gyűjtőhelyek között, amely tovább könnyíti a tudományos együttműködések tervezését.

Nagyon hasznos lehet, ha a szövetbankok hálózatba tömörülnek. Különösen nagyszámú mintára vagy ritka betegségekre alapozott kutatások esetén értékes időt lehet megtakarítani a hálózat segítségével. Ideális esetben egy ilyen hálózat nemzeti szinten jön létre, egyesítve az egyetemi kutatóközpontokat, mintatárolókat egy virtuális szövetbankban. Ehhez a klinikai adatok gyűjtéséhez egy rugalmas, webalapú számítógépes rendszerre van szükség, ahol az adatbevitel szabványosított. Csoportunk regisztrált tagja a Nemzeti Biobank Hálózatnak [10] és az európai biobankhálózatnak a Biobanking and Biomolecular Resources Infrastructure-nak [11].

Munkacsoportunk tevékenysége, elért eredményei adták a szakmai alapot a Tumorgenetika Biobank Klaszter létrejöttének, amely olyan tumor-mintagyűjtemény és -adatbázis felállítását tűzte ki célul, amely méretének és szerkezetének köszönhetően alkalmas platformként szolgálhat bármilyen, az egyéni genetikai háttér, a környezet és a különböző betegségek közötti kapcsolatokat vizsgáló tudományos kutatási programoknak. Reméljük, ehhez a kezdeményezéshez sok helyi mintagyűjtemény, érdeklődő klinikus, molekuláris genetikai laboratórium csatlakozik, hogy hazánk nagyobb arányban részesülhessen a biobankok okozta tudományos előnyökből.

## Irodalom

- [1] 10 Ideas Changing the World Right Now. Time. <[http://www.time.com/time/specials/packages/article/0,28804,1884779\\_1884782\\_1884766,00.html](http://www.time.com/time/specials/packages/article/0,28804,1884779_1884782_1884766,00.html)>
- [2] UK Biobank. <<http://www.ukbiobank.ac.uk/>>
- [3] deCODE genetics. <<http://www.decode.com/>>
- [4] Swedish National Biobank. <<http://www.biobanks.se/>>
- [5] EPIC. <<http://epic.iarc.fr/centers/iarc.php>>
- [6] Gen-AU. <<http://www.gen-au.at/projekt.jsp?projektId=34&lang=en>>
- [7] Biobanking and Biomolecular Resources Research Infrastructure (BBMRI). <<http://www.bbMRI.eu/index.php/home>>
- [8] A humángenetikai adatok védelméről, a humángenetikai vizsgálatok és kutatások, valamint a biobankok működésének szabályairól 2008. évi XXI. törvény 6. § (3).
- [9] *Morente, M. M., Mager, R., Alonso, S. és mtsai:* TuBaFrost 2: standardising tissue collection and quality control procedures for a European virtual frozen tissue bank network. *Eur. J. Cancer*, 2006, 42, 2684–2691.
- [10] Nemzeti Biobank Hálózat. <<http://www.biobanks.hu>>
- [11] Biobanking and Biomolecular Resources Infrastructure. <<http://www.bbMRI.org>>

(Baranyai Zsolt dr.,  
Budapest, Uzsoki u. 29., 1145  
e-mail: barazso@uzsoki.hu