



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ

Εθνικόν και Καποδιστριακόν
Πανεπιστήμιον Αθηνών

ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ-ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΑΘΗΝΑ, 6/12/2021

ΠΡΟΣ: Γραμματεία Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ
Γραμματεία Διατριβών
Γραμματεία Βιοηθικής και Δεοντολογίας

ΘΕΜΑ:

ΑΝΟΣΟΙΣΤΟΧΗΜΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΕΛΕΓΧΟΥ ΤΟΥ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ (Immune Checkpoint Proteins) ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ: ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ, ΑΝΑΤΟΜΙΚΕΣ ΚΑΙ ΚΛΙΝΙΚΟ-ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΕΙΣ.

ΥΠΟΨΗΦΙΟΣ ΔΙΔΑΚΤΩΡ:

Νικόλαος Συρίγος, MD

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΜΕΛΟΣ ΔΕΠ:

Καθηγητής Χρήστος Μαρκόπουλος

ΖΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΕΠΙΒΛΕΨΗΣ:

1) Καθηγητής Χρήστος Μαρκόπουλος (Επιβλέπων)

2) Καθηγητής Θεόδωρος Τρουπής

3) Καθηγητής Νικόλαος Νικητέας

ΠΕΡΙΛΗΨΗ:

ΑΝΟΣΟΙΣΤΟΧΗΜΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΕΛΕΓΧΟΥ ΤΟΥ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ (Immune Checkpoint Proteins) ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ: ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ, ΑΝΑΤΟΜΙΚΕΣ ΚΑΙ ΚΛΙΝΙΚΟ-ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΕΙΣ.

Εισαγωγή:

Ο καρκίνος του μαστού αποτελεί την κυρίαρχη αιτία θανάτου από καρκίνο στις γυναίκες παγκοσμίως. Ο τριπλά αρνητικός καρκίνος του μαστού [triple-negative breast cancer (TNBC)] αποτελεί έναν μοριακό υπότυπο που χαρακτηρίζεται από απουσία έκφρασης οιστρογονικού υποδοχέα [estrogen receptor (ER)], προγεστερονικού υποδοχέα [progesterone receptor (PgR)] και του υποδοχέα τύπου 2 του ανθρώπινου επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (HER2) και αντιπροσωπεύει το 10-20% του συνόλου των περιπτώσεων. Η πρόγνωση για τον τριπλά αρνητικό καρκίνο του μαστού είναι δυσμενέστερη συγκριτικά με άλλους υπότυπους, τόσο εξαιτίας της «επιθετικής» βιολογικής του συμπεριφοράς (τάση για ταχεία ανάπτυξη και μεταστατική διασπορά) αλλά και της αδυναμίας εφαρμογής ειδικών στοχευμένων θεραπειών γεγονός που περιορίζει σημαντικά τις θεραπευτικές επιλογές των ασθενών.

Μια υποομάδα των τριπλά αρνητικών καρκίνου του μαστού χαρακτηρίζεται από ανοσολογική ενεργοποίηση και έκφραση βιοδεικτών που προβλέπουν θετική ανταπόκριση στους αναστολείς σημείων ελέγχου του ανοσοποιητικού συστήματος (immune checkpoint inhibitors/ICIs).

Στόχοι της Μελέτης:

1. Η διερεύνηση της συχνότητας έκφρασης και προγνωστικής σημασίας των ακόλουθων μορίων ελέγχου του ανοσοποιητικού συστήματος (immune checkpoint proteins): IDO-1 / CTLA-4 / PD-L1
2. Η διερεύνηση συσχετίσεων μεταξύ της έκφρασης των μορίων IDO-1 και CTLA-4 με την έκφραση των PD-1 και PD-L1 πρωτεϊνών.
3. Η διερεύνηση της διαφοράς έκφρασης των ανωτέρω μορίων στον καρκίνο του μαστού αλλά και σε δείγματα φυσιολογικού (μη καρκινικού) ιστού μαζικού αδένου.
4. Η διερεύνηση της προγνωστικής σημασίας των ανωτέρω μορίων στους διάφορους υπότυπους του καρκίνου του μαστού.
5. Η διερεύνηση συσχετίσεων μεταξύ της έκφρασης των μορίων IDO-1 και CTLA-4 με τις υπόλοιπες κλινικοεργαστηριακές παραμέτρους των ασθενών.

Ασθενείς και Μέθοδος:

Η παρούσα μελέτη θα περιλαμβάνει 100 ασθενείς με χειρουργήσιμο καρκίνο μαστού. Για την εισαγωγή τους στη μελέτη, οι ασθενείς θα πρέπει να πληρούν τα ακόλουθα κριτήρια:

1. Υπογεγραμμένη φόρμα συγκατάθεσης
2. Ηλικία >18 έτη κατά την εγγραφή
3. Χειρουργηθέντα πρώιμο καρκίνο του μαστού
4. Διαθεσιμότητα πλήρων κλινικοπαθολογοανατομικών δεδομένων και αποθηκευμένων FFPE ιστολογικών δειγμάτων.

Η σταδιοποίηση των ασθενών θα γίνει σύμφωνα με το σύστημα κατάταξης TNM (8η έκδοση) της American Joint Committee on Cancer (AJCC) και της International Union against Cancer (UICC).

Για την εκτέλεση της ανοσοιστοχημικής μελέτης, θα χρησιμοποιηθούν αποθηκευμένα ιστολογικά υλικά καρκίνου του μαστού, μονιμοποιημένα σε φορμόλη και εμπεδωμένα σε παραφίνη (FFPE blocks).

Χρονοδιάγραμμα και Αποτελέσματα: Η ανωτέρω μελέτη αναμένεται να διαρκέσει συνολικά τρία (3) χρόνια. Στο χρονικό αυτό διάστημα θα έχει ολοκληρωθεί η καταγραφή όλων των δεδομένων, η διενέργεια της ανοσοιστοχημικής μελέτης, οι στατιστικές αναλύσεις καθώς και η εξαγωγή συμπερασμάτων και η συγγραφή και υποβολή των αποτελεσμάτων για δημοσίευση (σε ελληνικά και ξένα συνέδρια και σε ξενόγλωσσα ιατρικά περιοδικά του PubMed).

SHORT ABSTRACT OF THE PROTOCOL

1. Title

Immune Checkpoint Proteins Expression in patients with Breast Cancer: Prognostic Significance and Correlation with clinical and pathological parameters

2. Introduction

Indoleamine 2,3-dioxygenase 1 (IDO-1) is a tryptophan-catabolizing enzyme normally expressed in dendritic cells (DCs) but also in various human cancers. Its biologic behaviour has been described as “versatile”, as it may suppress or enhance the immune response of the host, depending on the presence or absence of other molecules in the microenvironment. Furthermore, its expression has been correlated with a worse prognosis in some cancer types, such as lung cancer.

A subset of triple-negative breast cancers (TNBCs) is characterized by immune activation and the expression of biomarkers predicting positive response to checkpoint inhibitor immunotherapy. The programmed death-ligand 1 (PD-L1) inhibitor atezolizumab, in combination with nab-paclitaxel, is an FDA-approved treatment for unresectable locally advanced or metastatic PD-L1-positive TNBC, while the PD-1 inhibitor pembrolizumab, in combination with chemotherapy, has been approved by the FDA for treatment of locally recurrent unresectable and metastatic PD-L1-positive TNBC.

3. Specific Aim(s) with hypotheses

The primary aim will be to investigate the prognostic significance of IDO-1 expression in breast cancer patients.

Secondary aims will include the investigation of potential associations between IDO-1 expression and various patient- and tumor-related clinicopathological variables, including PD-L1 expression.

Hypothesis: IDO-1 expression confers a worse prognosis in TNBC and is co-expressed with PD-L1

• Significance (Why is your question important?)

The study objectives are of increased clinical and therapeutic relevance, given the aggressiveness and limited therapeutic options of the breast cancer subtype investigated, its immunogenicity as well as the therapeutic implications of IDO-1 expression.

TNBC is the most immunogenic breast cancer subtype, theoretically ideal for application of immunotherapy.

The expression of IDO-1 in cancer tissues is of high clinical/therapeutic relevance, given the availability of highly selective, potent inhibitors of indoleamine 2,3-dioxygenase 1 –either as monotherapy or in combination with chemotherapy or PD-L1 inhibitors- which are currently tested for their efficacy in advanced solid tumors.

• Innovation (Why is the study innovative or an advance over prior knowledge?)

Very limited previous data have shown that breast cancer cells may express IDO-1; there is also a paucity of previous data on the expression of this molecule in specific subtypes of breast cancer (BC), such as triple-negative BC, or its

correlation with other clinicopathologic parameters. Its potential co-expression with immune checkpoint molecules such as PD-L1 or LAG-3 also remains to be investigated.

- *Basic study design (e.g., cohort, case-control...)*

This is a retrospective cohort study.

- *Study population and assembly of patients*

Female patients with operable triple-negative breast cancer (TNBC), defined by lack of expression of estrogen (ER) receptors, progesterone (PgR) receptors as well as human epidermal growth factor receptor 2 (HER2), will be enrolled.

- *Exposures and their measurement*

IDO-1 expression will be the main exposure variable and will be measured using immunohistochemistry techniques in archived formalin-fixed, paraffin-embedded (FFPE) blocks of BC tissue. Both nuclear and/or cytoplasmic staining of tumor cells will be considered positive, as previously described. Patients will be divided in two groups: low IDO-1 and high IDO-1 groups, using previous scoring systems.

- *Confounders and their measurement*

All possible confounding variables, such as age, smoking history/status, BMI, performance status (PS), comorbidities, menopausal status, disease stage, tumour size, histologic type, histologic grade, axillary lymph node status and PD-L1 immunohistochemical status will be evaluated. Information on the above patient- and tumour-related characteristics will be extracted from the medical records of patients or the pathology reports included in these records.

- *Outcomes and their measurement*

The main outcome variable will be disease-specific survival (DSS) defined as the time from surgery until disease-related death.

- *Analysis plan*

Following the performance of IHC for IDO-1 in archived FFPE blocks of patients, the IDO-1 IHC results (divided into low and high groups, as detailed above) will be correlated with DSS as well as with all remaining clinicopathological variables of patients, using univariate and multivariate regression analysis.

- *Strengths/limitations*

Strengths: originality of study objectives, high clinical and therapeutic relevance of results

Limitations/risks: retrospective design, difficulty in enrolling an adequate sample size due to the relative rarity of the cancer type investigated (TNBC).

ΕΝΤΥΠΟ ΣΥΓΚΑΤΑΘΕΣΗΣ ΑΣΘΕΝΗ ΚΑΤΟΠΙΝ ΕΝΗΜΕΡΩΣΗΣ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ: Σας καλούμε να συμμετάσχετε στη μελέτη που διενεργείται με στόχο τη διερεύνηση της έκφρασης των πρωτεϊνών IDO-1, CTLA-4, PD-1 ΚΑΙ PD-L1 σε ιστολογικά δείγματα καρκίνου του μαστού καθώς και σε ιστολογικά δείγματα μαζικού αδένα (μη καρκινικού).

2. ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟΣ ΣΚΟΠΟΣ: Η μελέτη αυτή προσπαθεί να διαλευκάνει περαιτέρω τη συχνότητα έκφρασης και την βιολογική σημασία πρωτεϊνών που μπορεί να επηρεάζουν τη συμπεριφορά των κυττάρων του καρκίνου του μαστού, την ανταπόκρισή τους στις χορηγούμενες θεραπείες και, εν τέλει, την κλινική έκβαση των ασθενών. Για το σκοπό αυτό, θα γίνει συσχέτιση των αποτελεσμάτων της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης των ως άνω βιολογικών μορίων με δημογραφικούς, κλινικοπαθολογοανατομικούς και εργαστηριακούς παράγοντες των ασθενών (όπως, π.χ. ηλικία, φύλο, στάδιο νόσου, ιστολογικός τύπος του όγκου κτλ.), συμπεριλαμβανομένης και της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης του μορίου PD-L1 σε ιστολογικά δείγματα.

3. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ: Σας ζητείται να δώσετε τη συγκατάθεσή σας για ερευνητική χρήση δειγμάτων ιστολογικού βιοπτικού υλικού. Τα δημογραφικά, κλινικά, παθολογοανατομικά, εργαστηριακά και θεραπευτικά δεδομένα σας καθώς και τα αποτελέσματα των αναλύσεων των μελετούμενων βιοδεικτών θα καταχωρούνται ανώνυμα σε μία κεντρική ηλεκτρονική βάση δεδομένων, ενώ τα συλλεχθέντα βιολογικά υλικά θα κωδικοποιούνται επίσης για την προστασία του απορρήτου σας.

4. ΚΙΝΔΥΝΟΙ ΚΑΙ ΕΝΟΧΛΗΣΕΙΣ: Δεν υπάρχουν κίνδυνοι για εσάς καθώς θα χρησιμοποιηθούν μόνο αποθηκευμένα ιστολογικά δείγματα, που έχουν ήδη συλλεγεί για διαγνωστικούς σκοπούς, και βρίσκονται αποθηκευμένα. Η θεραπεία σας δεν θα τροποποιηθεί/επηρεασθεί σε καμία περίπτωση από τα αποτελέσματα της μελέτης, και θα καθορισθεί από τον θεράποντα ιατρό σας ανεξαρτήτως των αποτελεσμάτων αυτών.

5. ΟΦΕΛΗ ΚΑΙ ΚΟΣΤΟΣ ΣΥΜΜΕΤΟΧΗΣ: Η συμμετοχή σας στη μελέτη δεν συνοδεύεται από κάποια επιβάρυνση. Δεν θα σας χρεωθούν οποιεσδήποτε από τις εξετάσεις και διαδικασίες που θα διεξαχθούν αποκλειστικά για ερευνητικούς σκοπούς. Τα αποτελέσματα της μελέτης θα ανακοινωθούν στους ασθενείς που θα συμμετάσχουν στη μελέτη.

6. ΕΜΠΙΣΤΕΥΤΙΚΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΔΙΑΧΥΣΗ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ: Οι πληροφορίες που θα συγκεντρωθούν από την εν λόγω μελέτη θα είναι εμπιστευτικές. Πληροφορίες που σχετίζονται με εσάς θα καταχωρούνται ανώνυμα και θα παραμείνουν εμπιστευτικές, τόσο κατά τη διάρκεια όσο και μετά την ολοκλήρωση της μελέτης, ενώ το όνομά σας δεν θα υπάρχει στα βιολογικά δείγματα που θα αναλυθούν, αλλά θα αντικατασταθεί από κάποιον αριθμό, σύμφωνα με τον Ευρωπαϊκό Γενικό Κανονισμό Προστασίας Δεδομένων (ΓΚΠΔ – GDPR) 2016/679. Τα αποτελέσματα που θα προκύψουν από τη μελέτη αυτή ενδέχεται να παρουσιαστούν σε επιστημονικά συνέδρια ή και να δημοσιευθούν σε ιατρικά περιοδικά ή ηλεκτρονικά (στο διαδίκτυο), αλλά χωρίς αναφορά στο πρόσωπό σας με τρόπο που θα επέτρεπε σε τρίτους να ανακαλύψουν την ταυτότητά σας. Μπορείτε να ζητήσετε πρόσβαση στις πληροφορίες που έχουν συλλεγεί για εσάς. Εάν νομίζετε ότι κάποια είναι λανθασμένη, μπορείτε να ζητήσετε εγγράφως από το γιατρό σας να τη διορθώσει ή να τη διαγράψει.

Η συμμετοχή σας στην παρούσα μελέτη δεν είναι υποχρεωτική. Έχετε το δικαίωμα να αρνηθείτε τη συμμετοχή σας στη μελέτη αυτή, χωρίς επιπτώσεις. Άρνηση της συμμετοχής σας δεν συνεπάγεται διακοπή της φροντίδας που λαμβάνετε από το Νοσοκομείο. Βεβαιωθείτε ότι διαβάσατε προσεκτικά και κατανοήσατε πλήρως το παρόν έντυπο. Ο θεράπων ιατρός και το νοσηλευτικό προσωπικό είναι στη διάθεσή σας για επίλυση τυχόν αποριών. Όταν θα έχετε διαβάσει το παρόν έντυπο και εφόσον συμφωνείτε να συμμετάσχετε στην ερευνητική μελέτη, θα σας ζητηθεί να υπογράψετε τη «δήλωση συγκατάθεσης», που αναφέρει ότι έχετε ενημερωθεί σχετικά και επιτρέπετε τη συμμετοχή σας.

7. ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΚΑΤΑΘΕΣΗΣ

-Έχω διαβάσει και κατανοήσει τις παραπάνω πληροφορίες για τη φύση, το σκοπό και τις διαδικασίες της ερευνητικής μελέτης στην οποία καλούμαι να συμμετάσχω. Κατανοώ ότι δεν είμαι υποχρεωμένος να συμμετάσχω στη μελέτη και ότι μπορώ να αποχωρήσω από αυτή οποιαδήποτε στιγμή, χωρίς καμία επίπτωση στη θεραπεία μου. Είχα την ευκαιρία και το χρόνο να εξετάσω αν επιθυμώ να συμμετάσχω στη μελέτη καθώς και να διατυπώσω ερωτήσεις αναφορικά με τη μελέτη. Συναινώ στην εθελοντική μου συμμετοχή στην έρευνα αυτή.

Ονοματεπώνυμο Ασθενούς ολογράφως

Υπογραφή

Ημερομηνία (ΗΗ/ΜΜ/ΕΕΕΕ)

Ονοματεπώνυμο Θεράποντος Ιατρού

Υπογραφή

Ημερομηνία (ΗΗ/ΜΜ/ΕΕΕΕ)