

## Kurzprotokoll

<b>Titel</b>	Liquid Biopsies für die personalisierte Krebstherapie des Rektumkarzinoms (Kolibri)
<b>Studienleiter</b>	Dr. med. Annett Linge
<b>Studiendesign</b>	prospektive Beobachtungsstudie
<b>Studienpopulation</b>	<p>Indikation: fortgeschrittenes Rektumkarzinom</p> <p><u>Einschlusskriterien:</u></p> <p><u>Arm 1:</u></p> <ul style="list-style-type: none"><li>- fortgeschrittenes Rektumkarzinom</li><li>- neoadjuvante Radiochemotherapie</li><li>- verordneter Dosisbereich: 45 bis 52 Gy</li><li>- cT3/ cT4, cN0 cM0/1 <u>oder</u> jedes cN+ unabh. vom T- und M-Status</li><li>- Paraffinblock aus dem diagnostischen Biopsiematerial und für wissenschaftliche Untersuchung verfügbar</li><li>- Bildgebende Untersuchungen vor Operation vorhanden</li><li>- OP-Bericht und schriftlicher Histologie-Befund vorhanden</li><li>- Allgemeinzustand WHO 0-2</li><li>- Tumolvolumen und Sitz lassen eine kurative Radiochemotherapie zu</li><li>- Alter <math>\geq</math> 18 Jahre</li></ul> <p><u>Arm 2:</u></p> <ul style="list-style-type: none"><li>- fortgeschrittenes Rektumkarzinom</li><li>- neoadjuvante Strahlentherapie</li><li>- verordnete Dosis: 25 Gy à 5 Gy/Fraktion</li><li>- cT3/ cT4, cN0 cM0/1 <u>oder</u> jedes cN+ unabh. vom T- und M-Status</li><li>- Paraffinblock aus dem diagnostischen Biopsiematerial und für wissenschaftliche Untersuchung verfügbar</li><li>- Bildgebende Untersuchungen vor Operation vorhanden</li><li>- OP-Bericht und schriftlicher Histologie-Befund vorhanden</li><li>- Allgemeinzustand WHO 0-2</li><li>- Alter <math>\geq</math> 18 Jahre</li></ul> <p><u>Ausschlusskriterien:</u></p> <ul style="list-style-type: none"><li>- weitere Tumorerkrankung, die einer Therapie bedarf oder die die Überlebenschancen des Patienten</li></ul>

	<p>beeinflusst</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Tumor-unabhängige Erkrankungen oder Zustände, die die Überlebenswahrscheinlichkeit des Patienten auf &lt;2 Jahre reduzieren</li> <li>- vorangegangene Bestrahlung im Beckenbereich</li> <li>- Schwangerschaft</li> <li>- Fehlende Einsicht oder fehlende Kooperation</li> </ul>
<p><b>Kurzbeschreibung</b></p>	<p>Die hier beschriebene Studie ist ein interdisziplinäres Projekt zwischen der Klinik und Poliklinik für Strahlentherapie und Radioonkologie (STR, UKD) und der der Klinik für Viszeral-, Thorax- und Gefäßchirurgie (VTG, UKD) bzw. der Klinik für Chirurgie (Krankenhaus St. Joseph-Stift) sowie der Medizinischen Klinik I (MK I, UKD) bzw. der Klinik für Onkologie/Palliativmedizin (Krankenhaus St. Joseph-Stift). Dieses Kurzprotokoll bezieht sich nur auf Untersuchungen zum Rektumkarzinom. Das Teilprojekt zum Kolonkarzinom wird ausschließlich in der Klinik für VTG-Chirurgie (UKD) und in der MK I (UKD) bearbeitet.</p> <p>Das Rektumkarzinom gehört mit zu den häufigen bösartigen Tumorentitäten in Europa. Patienten mit Rektumkarzinomen erhalten eine standardisierte multimodale Therapie, die die interdisziplinäre Zusammenarbeit zwischen den Fachdisziplinen Strahlentherapie, Chirurgie und Innere Medizin erforderlich macht. Im Rahmen dieses Kooperationsprojektes zwischen der VTG (UKD) bzw. der Klinik für Chirurgie (Krankenhaus St. Joseph-Stift), der MK I (UKD) bzw. der Klinik für Onkologie/Palliativmedizin (Krankenhaus St. Joseph-Stift) und der STR sollen zunächst die Tumorphoxie und die Krebsstammzellmarker am Tumorgewebe untersucht werden. Beides sind bedeutsame biologische Eigenschaften der individuellen Tumoren und wichtig für das Ansprechen auf eine Radio(chemo)therapie. Für das bessere Therapiemonitoring sollen im nächsten Schritt zirkulierende miRNAs aus <i>liquid biopsies</i> genutzt und entsprechende Korrelationen zwischen dem Tumorgewebe und der <i>liquid biopsy</i> geprüft werden. Neben dem Restmaterial des im Rahmen der Diagnostik entnommenen Gewebes sowie des OP-Präparates werden <i>liquid biopsies</i> von Patienten asserviert, die die volle Therapie (neoadjuvante Radio(chemo)therapie (R(C)Tx), OP, ggf. adjuvante Chemotherapie (CTx) und Nachsorge) durchlaufen. Abschließend erfolgen neben der Analyse des miRNA-Profiles auch die Bestimmung tumor-spezifischer Exosomen sowie zirkulierender Tumor-DNA (in Kooperation mit den o.g. Kliniken). Mit diesen interdisziplinären Untersuchungen soll das Potenzial der gering-invasiven <i>liquid biopsies</i> und deren Eignung als Biomarker für die personalisierte Krebstherapie erörtert werden.</p> <p>Zusätzlich wird diese prospektive Kohorte als Validierungskohorte eines retrospektiven Datensatzes der STR</p>

	(EK18012014 – „Multizentrische Evaluierung von klinischen Outcome-Parametern und Bio-markern bei Patienten mit Glioblastoma multiforme und Rektumkarzinom innerhalb der RadPlan-Bio Plattform („RadPlanBio“) verwendet.
<b>Parameter</b>	<p>Folgende Daten sollen erfasst und evaluiert werden:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Sammlung von in Paraffin eingebettetem Tumormaterial zur Evaluierung der Biomarker (DNA-, RNA-Extraktion, immunhistochemische Färbungen, Immunfluoreszenz-Färbungen)</li> <li>- Sammlung von liquid biopsies (Vollblut, Serum, Plasma, Buffy Coat; Urin)</li> <li>- bildgebende Untersuchungen (CT, MRT, PET/CT, Endosonographie, Abdominalsonographie, Röntgen) vor Therapie und während der Nachsorge zum (Re-)Staging/ zur Erfassung von Tumorparametern wie Größe, Lokalisation des Rezidivs</li> <li>- klinische Daten der Patienten (Alter, Begleiterkrankungen, Tumorstadium etc.)</li> <li>- Rezidivlokalisierung im Vergleich zum operierten Areal (innerhalb oder außerhalb des Op.-Gebietes)</li> </ul>
<b>Ziele</b>	<p><i>Hauptziele:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Untersuchung des Hypoxie- und Krebsstammzellmarker-Genexpressionsprofils (mRNA) mittels nanoString-Technologie</li> <li>- Untersuchung von hypoxie- und krebstammzellspezifischer miRNA (Serum) und Korrelation mit dem Genexpressionsprofil</li> <li>- Sammlung von Geweben und Daten in interdisziplinärer Gewebe-/Datenbank der beteiligten Kliniken</li> </ul> <p><i>Mittelfristige Ziele:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Entwicklung eines miRNA-/ Gen-/ Proteinexpressionsprofils für die Strahlenempfindlichkeit (Serum/ Plasma)</li> <li>- Evaluation der prognostischen Bedeutung der zirkulierenden miRNA und DNA sowie von tumorspezifischen Exosomen in Patienten mit lokal fortgeschrittenem Rektumkarzinom</li> </ul>
<b>Patientenzahl</b>	Zur Hypothesengenerierung jeweils 30 Patienten pro Arm und zur Validierung ebenfalls jeweils zusätzlich 53 Patienten pro Arm. Gesamtzahl: 166 Patienten
<b>Biometrie</b>	Die Korrelationsanalyse zwischen Genexpressionsprofil sowie hypoxie- und krebstammzellspezifischer miRNA (Serum) erfolgt

	<p>mittels Pearson-Korrelation. Sollten die Daten stark von der Normalverteilung abweichen, so wird die Spearman-Korrelation verwendet.</p> <p>Die Patientenzahl von 53 pro Arm ergibt sich aus einer Fallzahlplanung mit <math>\alpha=0,05</math>, <math>\text{power}=0,8</math> sowie der Annahme, dass der Pearson-Korrelationskoeffizient zumindest 0,4 beträgt (<math>N=47 + 10\% \text{ drop-out}</math> ergibt 53).</p>
<b>Patienteneinwilligung</b>	<p>Die Patienten bekommen eine für diese Studie spezifische Patienteninformation und Einwilligungserklärung ausgehändigt. Die Patienteneinwilligung wird vor dem Einschluss jedes Patienten in diese prospektive Studie eingeholt. Es werden nur Patienten eingeschlossen, die die Einwilligungserklärung unterzeichnet haben.</p>
<b>Dokumentation</b>	<p>Die Dokumentation der Daten erfolgt pseudonymisiert in eCRFs in der RadPlanBio-Studiendatenbank.</p> <p>Zugang zu den pseudonymisierten Daten haben die ausführenden Ärzte der kooperierenden Kliniken sowie deren involvierten Dokumentations- und Studienassistenten sowie Studienkoordinatoren.</p> <p>Alle wesentlichen Unterlagen (Aufzeichnungen und Dokumente z. B. Erhebungsbögen, Einwilligungserklärungen und andere relevante Unterlagen) müssen vom Studienleiter für die Dauer von mindestens 30 Jahren nach Ende oder Abbruch der klinischen Studie aufbewahrt werden. Der Studienleiter muss die studienrelevanten Unterlagen und Dokumente entsprechend den gesetzlichen Bestimmungen archivieren.</p> <p>Die Krankenblätter und andere Originaldaten müssen über den längst möglichen Zeitraum, den das Krankenhaus, die Institution oder die private Praxis gestattet, bei den beteiligten Kliniken aufbewahrt werden.</p>
<b>Auswertung</b>	<p>Die Auswertung der klinischen Daten erfolgt in Kollaboration mit den mitbehandelnden Kliniken, da die Patienten simultan bzw. sequentiell in den verschiedenen Fachdisziplinen (STR, VTG bzw. Klinik für Chirurgie, Krankenhaus St. Joseph-Stift und MK I bzw. Klinik für Onkologie/Palliativmedizin, Krankenhaus St. Joseph-Stift) behandelt werden.</p> <p>Nach DNA-, RNA-Extraktion und Erstellung von Leerschnitten der FFPE-Tumorblöcke bzw. von tissue microarrays werden die Biomarker an dem Tumorgewebematerial in der Klinik und Poliklinik für Strahlentherapie und Radioonkologie/ OncoRay ausgewertet. Es handelt sich hierbei zum Beispiel um Mikromilieu-Untersuchungen (insbesondere Hypoxie), Krebsstammzellmarker-Expressionen, Gen- und</p>

	<p>Proteinexpressionen vor der Therapie (in diagnostischen Biopsien) und im Op.-Material. In den <i>liquid biopsies</i> sollen u.a. zirkulierende miRNAs sowie zirkulierende DNA und Tumorexosomen präpariert und untersucht werden. Diese im Rahmen der <i>liquid biopsies</i> gewonnenen Ergebnisse sollen dann mit denen aus dem Tumorgewebe korreliert werden, mit dem Ziel entsprechende Signaturen im Blut zu entwickeln, sodass diese mittelfristig für die Patientenstratifizierung und zum Therapiemonitoring genutzt werden können. Die pseudonymisierten Datensätze werden dann zusammengefasst für die Korrelation des klinischen Ergebnisses mit den Biomarkern. Bilddaten (MRT, CT, PET/CT) werden ebenfalls pseudonymisiert zentral in der im DKTK Dresden etablierten Datenbank (RadPlanBio) gesammelt und stehen den beteiligten Einrichtungen für die Evaluierung zur Verfügung.</p>						
<b>Zeitplan</b>	<table> <tr> <td>Start Einschluss von Patienten:</td> <td>05/2016</td> </tr> <tr> <td>Ende Einschluss von Patienten:</td> <td>vorauss. 12/2019</td> </tr> <tr> <td>Ende des Follow-up:</td> <td>12/2024</td> </tr> </table>	Start Einschluss von Patienten:	05/2016	Ende Einschluss von Patienten:	vorauss. 12/2019	Ende des Follow-up:	12/2024
Start Einschluss von Patienten:	05/2016						
Ende Einschluss von Patienten:	vorauss. 12/2019						
Ende des Follow-up:	12/2024						

### Organisatorischer Ablauf

- 1) Den Patienten, die nach den Ein- und Ausschlusskriterien geeignet sind, wird die Patienteninformation ausgehändigt. Die Aufklärung der Patienten erfolgt durch einen Arzt der STR.
- 2) Alle Patienten müssen vor Beginn der Behandlung ihre freiwillige Teilnahme an der Studie inkl. der Asservierung von Gewebeproben und Blut sowie ggf. zusätzlich freiwillig von Urin auf der Einwilligungserklärung schriftlich vermerken.
- 3) Die Patienten werden durch die STR-Studienambulanz in RadPlanBio registriert und pseudonymisiert.
- 4) Die Radiochemotherapie wird analog hausinterner STR-SOP durchgeführt, einschließlich Konturierung und constraints.
- 5) Die relevanten Daten werden in die eCRFs in der RadPlaBio-Datenbank von den beteiligten Kliniken überführt.

CRF	Verantwortlich für Dokumentation
Eingang R(C)Tx	STR
Ende R(CT)x	STR
Postoperativ	VTG (UKD) bzw. Klinik für Chirurgie (Krankenhaus St. Joseph-Stift)
Follow-up adjuvante CTx	STR

Follow-up	STR (für UKD) bzw. Klinik für Onkologie/Palliativmedizin (Krankenhaus St. Joseph-Stift)
Spättoxizität	STR
Drop-out	alle beteiligten Kliniken

Bilddaten werden durch die STR in RadPlanBio überführt.

- 6) Die Sammlung der Gewebeproben erfolgt in pseudonymisierter Form zentral in der STR.
- 7) Die Asservation und Sammlung der *liquid biopsies* erfolgt standardisiert auf Grundlage einer klinikübergreifenden SOP in der jeweils mitbehandelnden Klinik, in der sich der Patient zu diesem Zeitpunkt in Behandlung befindet.

Arm 1:

Zeitpunkt	Verantwortlich für Gewinnung, Asservation und Sammlung
vor Beginn der neoadjuvanten RCTx	STR
2 Wochen, 4 Wochen und 6 Wochen nach Beginn der RCTx	STR
direkt vor OP (0-2 Tage vorher)	VTG bzw. Kliniken für Chirurgie/Onkologie/Palliativmedizin (bei OP im KH St. Joseph-Stift)
bzw.	bzw.
falls Zeitpunkt der OP > 8 Wochen, dann zusätzliche Abnahme durch STR nach 6 Wochen	STR
1 Woche nach OP	VTG (UKD) bzw. Klinik für Chirurgie (KH St. Joseph-Stift)
Follow-up: 3, 6, 12, 18, 24, 36, 48, 60 Monate nach OP	MK I/ STR (bei OP im UKD) bzw. Klinik für Onkologie/Palliativmedizin (bei OP im KH St. Joseph-Stift)
Verdacht auf neue Metastasen/ Rezidiv	STR (bei OP im UKD) bzw. Klinik für Onkologie/Palliativmedizin (bei OP im KH St. Joseph-Stift)

Arm 2:

Zeitpunkt	Verantwortlich für Gewinnung, Asservation und Sammlung
vor Beginn der neoadjuvanten RTx	STR
direkt vor OP (0-2 Tage vorher)	VTG bzw. Kliniken für Chirurgie/Onkologie/Palliativmedizin (bei OP im KH St. Joseph-Stift)
1 Woche nach OP	VTG (UKD) bzw. Kliniken für

	Chirurgie/Onkologie/Palliativmedizin (bei OP im KH St. Joseph-Stift)
Follow-up 3, 6, 12, 18, 24, 36, 48, 60 Monate nach OP	MK I/ STR (bei OP im UKD) bzw. Klinik für Onkologie/Palliativmedizin (bei OP im KH St. Joseph-Stift)
Verdacht auf neue Metastasen/ Rezidiv	STR (bei OP im UKD) bzw. Klinik für Onkologie/Palliativmedizin (bei OP im KH St. Joseph-Stift)