



Struttura S.C. Oncologia  
Indirizzo: Ospedale Carle - Via Antonio Carle, 25  
E-mail [oncologia@ospedale.cuneo.it](mailto:oncologia@ospedale.cuneo.it)

Responsabile f.f. Dr.ssa Ornella Garrone  
Telefono Segreteria 0171/616739 DH 0171/616350 Ambulatorio 0171/616380  
Fax Segreteria 0171/616737 DH 0171/616360 Ambulatorio 0171/619793

## **Titolo**

**ValutazioNE dell'effettO dell'eseRcizio fisico moderato sulla modUlazioNe del sistema immuNE in pazienti affette da carcinoma mammario in corso di chemioteRapia preoperatoria. Studio NEO-RUNNER.**

## **Acronimo**

NEO-RUNNER

## **Codice del protocollo**

NEO-RUNNER 0.1

## **Versione del protocollo**

1.0 del 05 giugno 2020

## **Promotore**

A.O. S. Croce e Carle di Cuneo  
SS Breast Unit, SC Oncologia  
V. M. Coppino, 26  
12100 Cuneo

## **Centro coordinatore**

A.O. S. Croce e Carle di Cuneo  
SC Oncologia

## **Sperimentatore Principale**

Dr.ssa Ornella Garrone



S.S. Breast Unit - Oncologia Medica

AO S. Croce e Carle di Cuneo

V. M. Coppino, 26

12100 Cuneo

Tel 0171616350

Fax 0171616360

[ornella.garrone@gmail.com](mailto:ornella.garrone@gmail.com)  
[garrone.o@ospedale.cuneo.it](mailto:garrone.o@ospedale.cuneo.it)

**Co-sperimentatori**

Dr.ssa Anna Maria Vandone

Dr.ssa Paola Vanella

Dr.ssa Fiorella Ruatta

Inf. Nicoletta Croce

Inf. Daniela Rubini

AO S. Croce e Carle di Cuneo

V. M. Coppino, 26

12100 Cuneo

Tel 0171616350

Fax 0171616360

[vandone.a@ospedale.cuneo.it](mailto:vandone.a@ospedale.cuneo.it)

[vanella.p@ospedale.cuneo.it](mailto:vanella.p@ospedale.cuneo.it)

[ruatta.f@ospedale.cuneo.it](mailto:ruatta.f@ospedale.cuneo.it)

[croce.n@ospedale.cuneo.it](mailto:croce.n@ospedale.cuneo.it)

[rubini.d@ospedale.cuneo.it](mailto:rubini.d@ospedale.cuneo.it)





## **1. Introduzione**

La prima dimostrazione in vivo che l'esercizio fisico è in grado di rallentare la crescita tumorale è stata pubblicata nel 1944 (1).

Solo 50 anni dopo il ruolo dell'esercizio fisico è stato valutato in donne con tumori mammari operati (2).

Da allora, una serie di ricerche condotte in modelli animali ed in pazienti, hanno confermato che esiste una relazione fra l'attività fisica e gli effetti delle terapie antitumorali, oltre che sulla qualità di vita delle donne in terapia (3-8). Restano però senza risposta molte domande importanti, che devono essere chiarite, per poter definitivamente consigliare l'esercizio fisico come coadiuvante nel trattamento dei tumori mammari.

E' noto, per esempio, che il meccanismo biologico alla base degli effetti benefici dell'esercizio fisico è legato alla stimolazione del sistema immunitario (8).

Non è ancora del tutto chiarito su quali meccanismi immunitari specifici l'attività fisica intervenga. E' anche considerato assodato che, mentre un'attività fisica moderata sia, in senso lato, benefica, un'attività fisica troppo spinta possa avere effetti opposti sul sistema immune, in particolare se tale attività è discontinua (9). In questo senso il "Nordic Walking" è considerato un esercizio fisico moderato e adatto a tutte le fasce di età.

L'anestesia generale è una pratica clinica associata ad una pesante immunosoppressione.

In una review sistematica della letteratura scientifica che ha analizzato 110 studi clinici, Kim R. (10) ha potuto dimostrare che tutti gli anestetici volatili e la maggior parte degli anestetici endovenosi di uso corrente hanno effetti pesantemente immunosoppressivi.

Questi effetti riducono la risposta antitumorale immunitaria e possono interferire sull'effetto delle terapie antitumorali adiuvanti.



A nostra conoscenza, nessuno studio ha ancora valutato l'effetto di un periodo di attività fisica moderata svolto durante la chemioterapia preoperatoria sull'immunosoppressione indotta dalla successiva chirurgia mammaria.

## **2. Disegno dello studio**

Studio interventistico senza farmaco, traslazionale, monocentrico, no-profit

## **3. Obiettivi dello studio**

### **3.1 Primario:**

Valutazione dell'effetto di un periodo di attività fisica moderata sul profilo immunologico delle pazienti con neoplasia mammaria dopo anestesia generale.

### **3.2 Secondari:**

Valutazione dell'effetto di un periodo di attività fisica moderata sul profilo immunologico delle pazienti con neoplasia mammaria operabile in corso di chemioterapia neoadiuvante.

Valutazione delle modificazioni del profilo immunologico e l'outcome.

## **4. Endpoints**

4.1 Primario: Valutazione del profilo cellulare e citochinico pre e post allenamento e pre e post chirurgia

4.2 Secondari: Correlazione della modificazione a livello cellulare e citochinico con l'outcome

## **5. Popolazione in studio**

Verranno arruolate le pazienti con diagnosi di neoplasia mammaria candidate a chemioterapia preoperatoria, afferenti alla Breast Unit dell'AO S. Croce e Carle.



## **6. Selezione delle pazienti**

### **6.1 Criteri di elegibilità**

- Età  $\geq$  18 anni
- Pazienti affette da neoplasia mammaria candidate a chemioterapia preoperatoria
- Consenso informato scritto

### **6.2 Criteri di esclusione**

- Pazienti non candidate a chemioterapia preoperatoria
- Incapacità a fornire consenso informato scritto

## **7. Procedure dello studio**

Lo studio prevede la raccolta di campioni ematici in diversi momenti del trattamento in pazienti affette da neoplasia mammaria sottoposte a trattamento chemioterapico preoperatorio e sottoposte ad attività fisica moderata (nordic walking).

### **7.1 Attività fisica**

Le pazienti effettueranno sessioni di Nordic Walking nelle 9-10 settimane precedenti la chirurgia. Sono previsti 3 allenamenti a settimana di circa 60 minuti ciascuno. L'ultimo allenamento prima della chirurgia è previsto tra le 24-72 ore precedenti. Le uscite saranno effettuate in collaborazione con la ASD Nordic Walking Alpi del Mare.

### **7.2 Tempistica dei prelievi**

Saranno effettuati prelievi ematici secondo una tempistica prestabilita:

- 1) Prelievo basale (T0): prima dell'inizio della chemioterapia
- 2) Prelievo prima dell'inizio dell'allenamento (T1)
- 3) Prelievo prima della chirurgia (T2): il giorno precedente la chirurgia
- 4) Prelievo dopo la chirurgia (T3): 48-72 h dopo l'intervento chirurgico
- 5) Prelievo a 6 mesi circa dal termine del trattamento chemioterapico (T4)



### 7.3 Gestione dei campioni ematici

I campioni saranno processati nel laboratorio di ricerca traslazionale ARCO dell'Oncologia Medica dell'AO S. Croce e Carle. I risultati verranno inseriti in un database compilato dalla Dr.ssa Ornella Garrone, Sperimentatore Principale del progetto o da suo collaboratore.

### 7.4 Analisi effettuate

Saranno valutate modificazioni a carico dei seguenti parametri:

- Al tempo T0, T1, T2, T3 e T4 saranno effettuate le seguenti valutazioni:
- -esame emocromocitometrico
- -LDH
- 1. valutazione delle principali cellule T circolanti, NK e valutazione delle MDSCs e delle cellule dendritiche mature (DCs).
- 2. Valutazione delle interleukine di specifiche sottopopolazioni cellulari
- 3. Valutazione delle principali citochine (quali VEGF, TGF-beta, TNF-alfa, INF  $\gamma$ ).

Le seguenti popolazioni cellulari saranno studiate mediante la citometria a flusso:

Linfociti T : CD3+ CD4+ CD25+ Foxp3+

Linfociti T CD3+ CD8+

NK cells: CD3- CD56+

MDSC: CD33+ CD11b+ CD14- HLA-DR (low)

DC mieloidi HLA-DR+lin<sup>dim</sup>/negative/CD11c+ e DC plasmocitoidi HLA-DR+lin<sup>dim</sup>/negative/CD123+

VEGF, TGF-beta e le altre citochine ed interleuchine saranno valutate usando i kit commerciali disponibili

- Th1: IL-2, IL-12, IL-15, IL-21, IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$

- Th2: IL-4 (B cell stimulating factor BSF-1), IL-5, IL-6, IL-10, IL-13 saranno misurate con kit ELISA Kit commerciale.



## **8. Considerazioni statistiche**

### **8.1 Calcolo del campione**

Data la natura esplorativa dello studio non viene effettuato il calcolo del campione a priori né la potenza dello studio.

### **8.2 Analisi statistica**

Per l'analisi descrittiva delle variabili in studio saranno utilizzate frequenze, medie, mediane, intervalli interquartili e deviazioni standard. Le differenze tra le popolazioni cellulari e le citochine saranno valutate utilizzando il test chi-quadro per le variabili categoriche e il test U di Mann-Whitney per campioni indipendenti per le variabili continue. Il modello di regressione lineare multivariata sarà utilizzato per esaminare l'impatto delle citochine sull'outcome, aggiustando per lo score al basale e per altri confondenti individuati in letteratura e mediante i fattori ottenuti dall'analisi univariata ( $p < 0.20$ ). Le analisi saranno effettuate utilizzando il package statistico SPSS nella versione 24.

### **8.3 Tipologia di dati raccolti**

Dati clinici, anamnestici e amministrativi; dati istologici e di biologia molecolare relativi alla neoplasia; dati di laboratorio relativi ai prelievi effettuati; dati di laboratorio relativi all'analisi delle citochine; dati relativi ad outcome: DFS (disease free survival) e OS (overall survival). Tali dati verranno estratti dalle cartelle cliniche e dai database intraospedalieri (Opera, Ippocrate, Database Dati laboratoristici, Digistat). Tali dati saranno anonimizzati e raccolti in un file di excel.

## **9. Aspetti etici**

Questo studio sarà condotto in conformità con i principi etici originati dalla Dichiarazione di Helsinki, alle Good Clinical Practices ed in conformità con la legislazione nazionali ed internazionali vigenti in materia, nonché in accordo al Regolamento Europeo sulla protezione dei dati personali e sensibili del 2016 (GDPR UE 679/2016), previa approvazione del Comitato Etico Locale.

### **9.1 Protezione dei dati**



Nello studio non verrà raccolto alcun dato che consenta di identificare il paziente (come il suo nome, indirizzo, numero di telefono, codice fiscale) e il paziente verrà identificato attraverso un codice univoco. Gli sperimentatori dovranno garantire che l'anonimato del paziente sia sempre mantenuto e che la sua identità sia protetta da persone e istituzioni non autorizzate. Tutte le parti coinvolte in questo studio prospettico monocentrico manterranno la massima riservatezza per garantire la privacy del paziente.

Il trattamento dei dati personali delle pazienti che partecipano alla sperimentazione avverrà in conformità al regolamento europeo sulla protezione dei dati personali (EU GDPR 679/2016) e alla normativa vigente.

## 9.2 Comitato etico

Sotto la responsabilità del Principal Investigator tutta la documentazione sarà sottoposta al Comitato Etico per ottenere il parere positivo. Lo studio non potrà essere avviato nel caso di parere negativo da parte del Comitato Etico di riferimento.

## 9.3 Confidenzialità dello studio

Al fine di garantire la riservatezza dei dati dello studio come richiesto dalla direttiva 2001/20 / CE del Parlamento europeo, i dati saranno accessibili solo al PI e ai Co-PI e ai collaboratori, al Comitato Etico ed alle autorità coinvolte. Tutti i dati o qualsiasi materiale proveniente dallo studio non potranno essere divulgati dallo sperimentatore (o da suoi collaboratori) a terzi non autorizzati, senza il consenso del PI. Gli sperimentatori consentiranno l'accesso ai dati e alla documentazione per eventuali attività di monitoraggio, di da parte del Comitato Etico e di ispezioni da parte delle autorità sanitarie, mantenendo sempre la riservatezza dei dati personali in conformità con tutte le normative applicabili.

## 10. Durata dello studio

Si prevede una durata dello studio di 24 mesi per l'arruolamento delle pazienti e di 12 mesi per il follow-up e l'analisi dei dati a partire dall'approvazione del Comitato Etico.



## **11. Bibliografia**

- 1) Rusch HP, et al. The effect of exercise on the growth of a mouse tumor. *Cancer Res* 4, 116-118 1944
- 2) Winnigham ML, et al. Effect of aerobic exercise on body weight and composition in patients with breast cancer on adjuvant chemotherapy. *Oncol. Nurs. Forum* 1989 Sep-Oct;16(5):983-9
- 3) Segal R, et al. Structured exercise improves physical functioning in women with stage I and II breast cancer: results of a randomized controlled trial. *J. Clin. Oncol* 2001;19:657-65
- 4) Holmes MD et al. Physical activity and survival after breast cancer diagnosis. *JAMA* 2005 25;293(20):2479-86
- 5) Courneya KS, et al. Effect of aerobic and resistance exercise in breast cancer patients receiving adjuvant chemotherapy: a multicenter randomized controlled trial. *J. Clin. Oncol.* 2007 1;25(28):4396-404
- 6) Meyerhardt JA et al. Interaction of molecular markers and physical activity on mortality in patients with colon cancer. *Clin Cancer Res.* 2009;15:5931-5936
- 7) Betof AS, et al. Modulation of murine breast tumor vascularity, hypoxia and chemotherapeutic response by exercise. *J. Natl. Cancer Inst.* 2015; doi: 10.1093/jnci/djv040
- 8) Pedersen L, et al. Voluntary running suppresses tumor growth through epinephrine and IL-6 dependent NK cell mobilization and redistribution. *Cell Metab.* 2016;23:554-62
- 10) Gleeson M et al. Effects of exercise on immune function. *Sports Science Exchange*, 2015;28:1-6
- 11) Kim R, et al. Effects of surgery and anesthetic choice on immunosuppression and cancer recurrence. *J. Transl. Med* 2018; doi: 10.1186/s12967-018-1389-7