



ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

Σχολή Επιστημών Υγείας

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

ΠΜΣ: <<Μεθοδολογία Βιοϊατρικής Έρευνας, Βιοστατιστική και Κλινική Βιοπληροφορική>>

ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Προοπτική, μη-παρεμβατική μελέτη παρατήρησης για την ασφάλεια και αποτελεσματικότητα της Ναταλιζουμάμπης στη θεραπεία της υποτροπιάζουσας μορφής πολλαπλής σκλήρυνσης

CLINICAL TRIAL PROTOCOL

A prospective, observational study for the safety and efficacy of natalizumab in Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis

Αριθμός πρωτοκόλλου:

Έτος υποβολής: 2019

Μεταπτυχιακή φοιτήτρια: Τσούκρα Παρασκευή

Τριμελής επιτροπή:
Δοξάνη Χρυσούλα, MSc, PhD, MD
Πανεπιστημιακός Υπότροφος

Στεφανίδης Ιωάννης, Καθηγητής
Παθολογίας- Νεφρολογίας

Ζιντζαράς Ηλίας, Καθηγητής
Βιομετρίας- Βιομαθηματικών

Περιεχόμενα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟΥ	1
PROTOCOL SUMMARY	2
Γλωσσάριο Συντομεύσεων	3
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	4
1.1 Θεωρητικό υπόβαθρο	4
1.2 Κύριο ερευνητικό ερώτημα	7
1.3 Πιθανοί κίνδυνοι.....	7
1.4 Πιθανά οφέλη	7
2. ΣΤΟΧΟΙ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	7
2.1 Κύριος στόχος.....	7
2.2 Δευτερεύοντες στόχοι.....	8
2.3 Μετρήσεις μελέτης	8
2.3.1 Κύριες μετρήσεις.....	8
2.3.2 Δευτερεύουσες μετρήσεις	8
3. ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	9
3.1 Τύπος κλινικής μελέτης.....	9
3.2 Υπολογισμός μεγέθους δείγματος	9
3.3 Πληθυσμός μελέτης.....	10
3.4 Προβλεπόμενη διάρκεια συμμετοχής στη μελέτη.....	10
4. ΕΓΓΡΑΦΗ ΣΥΜΜΕΤΕΧΟΝΤΩΝ.....	10
4.1 Κριτήρια εισόδου στη μελέτη.....	10
4.2 Κριτήρια αποκλεισμού από τη μελέτη	10
4.3 Συλλογή και καταγραφή δεδομένων	11
4.4 Αποχώρηση συμμετεχόντων από τη μελέτη	11
5. ΘΕΡΑΠΕΙΑ.....	11
5.1 Δοσολογία.....	11
5.2 Τρόπος χορήγησης.....	11
6. ΕΠΙΣΚΕΨΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΛΕΤΗΣ	12
7. ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΚΑΙ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΕΙΣ	13

8. ΘΕΜΑΤΑ ΑΣΦΑΛΕΙΑΣ	13
8.1 Ανεπιθύμητο συμβάν (Adverse event)	13
8.2 Ανεπιθύμητη ενέργεια (Adverse drug reaction).....	14
8.3 Ταξινόμηση ανεπιθύμητων ενεργειών (Grading).....	14
8.4 Σοβαρή ανεπιθύμητη ενέργεια (Serious adverse event).....	14
8.5 Διαδικασίες αναφοράς	14
9. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ	15
9.1 Ενδιάμεση ανάλυση.....	16
10. ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΑ ΖΗΤΗΜΑΤΑ	16
10.1 Εμπιστευτικότητα και προστασία προσωπικών δεδομένων	16
10.2 Ηθικοί παράμετροι.....	16
10.3 Τροποποιήσεις και αποκλίσεις πρωτοκόλλου	17
10.4 Διαδικασία συγκατάθεσης.....	17
Βιβλιογραφία	17

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟΥ

Τίτλος: Προοπτική, μη-παρεμβατική μελέτη παρατήρησης για την ασφάλεια και αποτελεσματικότητα της Ναταλιζουμάμπης στη θεραπεία της υποτροπιάζουσας μορφής πολλαπλής σκλήρυνσης

Κύριος ερευνητής: Τσούκρα Παρασκευή

Χορηγός:

Ημερομηνία κατάθεσης πρωτοκόλλου: 01/10/2019

Εισαγωγή: Η ναταλιζουμάμπη αποτελεί τον πρώτο ανταγωνιστή της α4-υπομονάδας των ανθρώπινων ιντεγκρινών. Αν και είναι αποτελεσματική στη μείωση των ώσεων και την επιβράδυνση της εξέλιξης της αναπηρίας, η χορήγησή της έχει συσχετισθεί με την πρόκληση της προϊούσας πολυεστιακής λευκοεγκεφαλοπάθειας, μιας δυνητικά θανατηφόρας ευκαιριακής λοίμωξης του ΚΝΣ.

Στόχοι: Η αξιολόγηση της ασφάλειας και της αποτελεσματικότητας της ναταλιζουμάμπης ως μονοθεραπεία στην πολλαπλή σκλήρυνση για χρονικό διάστημα δυο (2) ετών.

Μέθοδοι

Κύριες μετρήσεις: Το ποσοστό των υποτροπών στους 12 και 24 μήνες, οι σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες του φαρμάκου, το ποσοστό περιστατικών με PML.

Σχεδιασμός και τύπος μελέτης: Προοπτική, μη-παρεμβατική.

Ένδειξη: Υποτροπιάζουσα πολλαπλή σκλήρυνση.

Πληθυσμός μελέτης: Ασθενείς από οχτώ ειδικά κέντρα MS στην Ευρώπη που πληρούν τα κριτήρια εισόδου στη μελέτη.

Αριθμός ασθενών: 370

Διάρκεια συμμετοχής στη μελέτη: 96 εβδομάδες

Στατιστική ανάλυση: Θα γίνει καταγραφή των εξής χαρακτηριστικών:

- Φύλο
- Ηλικία

- Διάρκεια νόσου
- Συννοσηρότητα
- Λήψη φαρμάκων
- Διάρκεια θεραπείας με άλλο ανοσοτροποποιητικό ή ανοσοκατασταλτικό φάρμακο πριν την έναρξη της ναταλιζουμάμπης
- Αιματολογικές και βιοχημικές εξετάσεις
- Μαγνητικές τομογραφίες
- Αλλαγή της βαθμολογίας στην κλίμακα EDSS

Τα δεδομένα θα αναλυθούν με την περιγραφική στατιστική. Για τις ποιοτικές μεταβλητές θα υπολογιστεί το ποσοστό των ασθενών σε κάθε κατηγορία, ενώ για τις ποσοτικές θα υπολογιστούν η μέση τιμή, η διάμεσος, η τυπική απόκλιση και το 95% διάστημα εμπιστοσύνης.

PROTOCOL SUMMARY

Title: A prospective, observational study for the safety and efficacy of natalizumab in Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis

Principle investigator: Tsoukra Paraskevi

Sponsor:

Submission date: 01/10/2019

Introduction: Natalizumab is the first $\alpha 4$ integrin antagonist. Although effective in reducing relapses in MS and progression of disability, its administration has been associated with an opportunistic and potentially fatal infection of the central nervous system that may lead to progressive multifocal leukoencephalopathy.

Outcomes: To assess the safety and efficacy of natalizumab monotherapy in multiple sclerosis for up to two years.

Methods

Primary outcome measures: Percentage of participants with relapse at 12, 24 months and with PML, serious adverse events of natalizumab.

Study type and design: observational, prospective.

Disease: Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis.

Study population: Patients who meet the inclusion criteria will be recruited from eight MS centers in Europe.

Number of participants: 370

Duration of participation: 96 weeks

Statistical analysis: Characteristics that will be recorded:

- Gender
- Age
- Comorbidity
- Concomitant medication
- Duration of therapy with other immunosuppressive drugs before starting natalizumab
- Blood tests
- Brain MRI
- Any score change in EDSS scale
- Adverse events

Descriptive statistics will be performed. For the categorical data, the proportion of patients in each category will be estimated, and for the numerical data the mean, median, standard deviation and 95% Confidence Interval will be calculated.

Γλωσσάριο Συντομεύσεων

DMT: Disease Modifying Treatment

ΚΝΣ: Κεντρικό Νευρικό Σύστημα

MS: Multiple Sclerosis

RRMS: Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis

JCV: John Cunningham Virus

PML: Progressive multifocal Leukoencephalopathy

DNA: Deoxyribonucleic acid

EDSS: Expanded Disability Status Scale

ARR: Annualized Relapse Rate

MRI: Magnetic Resonance Imaging

IV: Intravenous

CRF: Case Report Form

EUCTD: European Union Clinical Trial Directive

ELISA: Enzyme-linked Immunosorbent Assay

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Θεωρητικό υπόβαθρο

Η πολλαπλή σκλήρυνση (MS), γνωστή και ως διάσπαρτη εγκεφαλομυελίτις ή σκλήρυνση κατά πλάκας, αποτελεί χρόνια φλεγμονώδη απομυελινωτική νόσο του εγκεφάλου και του νωτιαίου μυελού (κεντρικό νευρικό σύστημα) αγνώστου αιτιολογίας. Παθοφυσιολογικά, επέρχεται καταστροφή της μυελίνης που περιβάλλει τους νευράξονες με αποτέλεσμα οι τελευταίοι να μην μπορούν να μεταφέρουν αποτελεσματικά τις εντολές ενώ υπάρχει πιθανότητα να καταστρέφονται ακόμα και από τα αρχικά στάδια της νόσου, δημιουργώντας έτσι μη αναστρέψιμες βλάβες και αναπηρία. Οι απομυελινωτικές βλάβες εμφανίζουν διασπορά στον χώρο και τον χρόνο (είναι δηλαδή σε διαφορετικές θέσεις στο ΚΝΣ και επέρχονται σε διαφορετικές χρονικές στιγμές) .

Ο επιπολασμός της νόσου υπολογίζεται σε 50-100/100.000 κατοίκους, ενώ παρουσιάζει διαφορά μεταξύ βορείου και νοτίου ημισφαιρίου. Η επίπτωση εκτιμάται σε 3/100.000 κατοίκους με συχνότερη ηλικία έναρξης μεταξύ του 20^{ου} και 40^{ου} έτους της ηλικίας, με τις γυναίκες να πάσχουν συχνότερα από τους άνδρες.

Στα συμπτώματα της MS περιλαμβάνονται διαταραχές αισθητικότητας και κινητικότητας, παραισθησίες, παρέσεις, αύξηση του μυϊκού τόνου (σπαστικότητα), διαταραχές ισορροπίας (αταξία), διαταραχές οφθαλμοκίνησης, θόλωση της όρασης λόγω φλεγμονής του οπτικού νεύρου (οπτική νευρίτιδα), κυστικές και σεξουαλικές διαταραχές, δυσarthρία και ψυχικά συμπτώματα.

Ανάλογα με την πορεία της MS διακρίνονται τρεις κυρίως μορφές:

- Την υποτροπιάζουσα με εξάρσεις και υφέσεις-RRMS (60%)
- Την δευτεροπαθώς προϊούσα (30%)
- Την πρωτοπαθώς προϊούσα (10%)

Σε ταχέως εξελισσόμενες μορφές οι ασθενείς εμφανίζουν βαριές αναπηρίες και μπορεί να καταλήξουν σε αναπηρική καρέκλα σε 5-10 χρόνια.

Δεν υπάρχει ακόμη αιτιολογική θεραπεία της MS. Τα ανοσοτροποποιητικά και ανοσοκατασταλτικά φάρμακα χρησιμοποιούνται για την προφυλακτική θεραπεία.

Η ναταλιζουμάμπη ανήκει στα ανοσοκατασταλτικά φάρμακα και αποτελεί ανασυνδυσασμένο εξανθρωποποιημένο μονοκλωνικό αντίσωμα που παράγεται σε μια κυτταρική σειρά μυός μέσω τεχνολογίας ανασυνδυσασμένου DNA. Ενδείκνυται ως μονοθεραπεία δεύτερης γραμμής στην RRMS σε ασθενείς με υψηλής δραστηριότητας νόσο και προηγούμενη ανεπαρκή ανταπόκριση σε τροποποιητική θεραπεία πρώτης γραμμής (DMT) ή σε ασθενείς με σοβαρή ταχέως εξελισσόμενη MS. Αποτελεί ανταγωνιστή της α4- υπομονάδας των ανθρώπινων ιντεγκρινών, που εκφράζονται στην επιφάνεια των λεμφοκυττάρων, εμποδίζοντας έτσι την μετανάστευσή τους μέσω του ενδοθηλίου στον φλεγμαίνοντα παρεγχυματικό ιστό. Με τον τρόπο αυτό, περιορίζεται ο σχηματισμός και η διεύρυνση των βλαβών στην MS.

Παρόλο που το φάρμακο είναι καλά ανεκτό, η θεραπεία με ναταλιζουμάμπη σχετίζεται με μία σπάνια και δυνητικά θανατηφόρα ευκαιριακή λοίμωξη του ΚΝΣ από τον ιό JC (John Cunningham Virus), γνωστή ως προϊούσα πολυεστιακή λευκοεγκεφαλοπάθεια (PML). Ο ιός JC θεωρείται ότι είναι αδρανής στο ΚΝΣ (όπως κρίνεται από την παρουσία αντισωμάτων έναντι του ιού στο 70% περίπου του υγιούς

ενήλικα πληθυσμού) και αρχίζει να αναπαράγεται όταν μία κατάσταση ανοσοκαταστολής του οργανισμού το επιτρέψει. Στα συμπτώματα της PML περιλαμβάνονται κεφαλαλγία, αισθητικές διαταραχές, διαταραχές λόγου, αταξία, και εξελίσσεται η κλασική τριάδα: άνοια, ημιπάρεση, ημιανοψία. Ο κίνδυνος εμφάνισης PML με τη ναταλιζουμάμπη αυξάνεται ιδιαίτερα μετά την 24^η ενδοφλέβια χορήγηση του φαρμάκου (δηλαδή διάρκεια θεραπείας 2 ετών) ενώ η συχνότητα ανέρχεται σε περίπου 1/1.000. Άλλοι παράγοντες αυξημένου κινδύνου αποτελούν η παρουσία αντισωμάτων έναντι του ιού JC στον ορό και η προηγούμενη χρήση ανοσοκατασταλτικών. Εάν η PML δεν διαγνωσθεί και δεν αντιμετωπισθεί άμεσα, υπάρχει σοβαρότατος κίνδυνος για τη ζωή του ασθενούς.

Δυο μεγάλες τυχαίοποιημένες, διπλά τυφλές, ελεγχόμενες με εικονικό φάρμακο, φάσης III, κλινικές μελέτες έχουν δείξει σημαντική μείωση των υποτροπών με τη ναταλιζουμάμπη, είτε ως μονοθεραπεία (AFFIRM), είτε σε συνδυασμό με ιντερφερόνη β-1a (SENTINEL). Η πρώτη έδειξε μείωση στο ετήσιο ποσοστό υποτροπών κατά 68% σε σχέση με το εικονικό φάρμακο κατά το 1^ο έτος της μελέτης, με το ποσοστό να διατηρείται ίδιο κατά το 2^ο έτος. Στη δεύτερη μελέτη το ποσοστό μείωσης ανέρχεται σε 54% και 55% κατά το 1^ο και 2^ο έτος, αντίστοιχα.

Σχετικά με την ασφάλεια, τα αποτελέσματα μιας ενδιάμεσης ανάλυσης μεγάλης πολυκεντρικής μελέτης παρατήρησης (Tysabri Observational Program, TOP) έχουν δείξει πως 2.6% των ασθενών εμφάνισαν σοβαρή ανεπιθύμητη ενέργεια που θεωρήθηκε ότι σχετιζόταν με τη ναταλιζουμάμπη. Η συνολική επίπτωση της PML ανερχόταν σε 0.4%.

Είναι πλέον τεκμηριωμένο ότι η ναταλιζουμάμπη έχει επιφέρει σημαντική πρόοδο όσον αφορά τη θεραπεία της υποτροπιάζουσας μορφής πολλαπλής σκλήρυνσης. Σχετικά με την ασφάλεια του φαρμάκου, έχει δειχθεί από κλινικές μελέτες φάσης III ότι η ναταλιζουμάμπη είναι καλά ανεκτή από τους ασθενείς με τις περισσότερες ανεπιθύμητες ενέργειες που σχετίζονται με το φάρμακο να είναι ήπιες. Ο κίνδυνος ανάπτυξης PML παραμένει χαμηλός, ωστόσο είναι απαραίτητη και αναγκαία η εξατομικευμένη αξιολόγηση της σχέσης οφέλους/κινδύνου από τη θεραπεία με ναταλιζουμάμπη.

1.2 Κύριο ερευνητικό ερώτημα

Στην κλινική πράξη λοιπόν, ιατροί και ασθενείς έρχονται αντιμέτωποι με το δίλημμα του σοβαρού κινδύνου ανάπτυξης PML με τη συνέχιση της θεραπείας ή με τον κίνδυνο υποτροπής και εξέλιξης της αναπηρίας με τη διακοπή της θεραπείας. Η λογική της παρούσας μελέτης είναι να αξιολογήσει την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια της ναταλιζουμάμπης ως μονοθεραπεία στην υποτροπιάζουσα πολλαπλή σκλήρυνση (RRMS) για χρονικό διάστημα δυο (2) ετών. Στην μελέτη θα εισαχθούν ασθενείς που ξεκίνησαν τη θεραπεία με ναταλιζουμάμπη κατά την ένταξή τους. Θα διερευνηθεί το κατά πόσο υπήρξε μεταβολή στο ποσοστό των υποτροπών και στην εξέλιξη της αναπηρίας, ενώ παράλληλα θα αξιολογηθεί η ασφάλεια και ανοχή του φαρμάκου από τους ασθενείς. Έτσι, θα μπορούν να εκτιμηθούν οι σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες του φαρμάκου και ιδιαίτερος του σοβαρότερου κινδύνου που υπάρχει, της PML.

1.3 Πιθανοί κίνδυνοι

Η συμμετοχή των ασθενών στη μελέτη δεν απαιτεί κάποια θεραπευτική παρέμβαση παρα μόνο αυτή που παρέχεται από τον θεράποντα ιατρό. Συνεπώς, δεν αναμένονται άμεσοι κίνδυνοι από τη συμμετοχή των ασθενών σε αυτή. Βεβαίως, η θεραπεία με ναταλιζουμάμπη μπορεί να ενέχει κάποιους κινδύνους, που απλώς θα καταγραφούν κατά την διάρκεια της μελέτης.

1.4 Πιθανά οφέλη

Δεν αναμένεται κάποιο προσωπικό όφελος των ασθενών από την συμμετοχή τους στη μελέτη, πλὴν της ενημέρωσης. Η πραγματοποίηση της μελέτης θα βοηθήσει στην καταγραφή συγκεκριμένων δεδομένων όσον αφορά την πολλαπλή σκλήρυνση και τη θεραπεία με ναταλιζουμάμπη, αυξάνοντας έτσι το σύνολο των γνώσεων στον συγκεκριμένο τομέα.

2. ΣΤΟΧΟΙ ΜΕΛΕΤΗΣ

2.1 Κύριος στόχος

Κύριος στόχος της μελέτης είναι η αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας της ενδοφλέβιας χορήγησης ναταλιζουμάμπης μία φορά κάθε τέσσερις (4) εβδομάδες στη θεραπεία της RRMS στους δώδεκα (12) και

εικοσιτέσσερις (24) μήνες από την είσοδο των ασθενών στη μελέτη. Θα καταγραφεί η μεταβολή στο ετήσιο ποσοστό των υποτροπών (Annualized Relapse Rate, ARR) για δυο συναπτά έτη από την έναρξη της μελέτης. Επίσης, θα αξιολογηθεί η ασφάλεια του φαρμάκου και ο κίνδυνος εμφάνισης σοβαρών ανεπιθύμητων ενεργειών, ιδιαιτέρως του κινδύνου ανάπτυξης προϊούσας πολυεστιακής εγκεφαλοπάθειας.

2.2 Δευτερεύοντες στόχοι

Κατά την διάρκεια των δυο ετών που θα πραγματοποιηθεί η μελέτη θα καταγραφούν δημογραφικά στοιχεία των ασθενών με RRMS, η εξέλιξη αναπηρίας στην κλίμακα Kurtzke EDSS, οι αλλαγές στην Μαγνητική Τομογραφία των ασθενών, ο αριθμός των νοσηλειών.

2.3 Μετρήσεις μελέτης

2.3.1 Κύριες μετρήσεις

Στις κύριες μετρήσεις της μελέτης περιλαμβάνονται:

1. Το ποσοστό των ασθενών με υποτροπή στους 12 και 24 μήνες
Κάθε υποτροπή ορίζεται ως η εμφάνιση νέου νευρολογικού συμπτώματος ή η επιδείνωση ενός παλιού, που δεν σχετίζεται με την εμφάνιση πυρετού ή λοίμωξης και διαρκεί από (τουλάχιστον) 24 ώρες και ακολουθείται από μία περίοδο τριάντα (30) ημερών σταθερότητας ή βελτίωσης.
2. Οι σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες του φαρμάκου
3. Το ποσοστό περιστατικών με PML

2.3.2 Δευτερεύουσες μετρήσεις

Στις δευτερεύουσες μετρήσεις της μελέτης περιλαμβάνονται:

1. Ο αριθμός των νέων ή πρόσφατα διευρυμένων υπέρπυκνων βλαβών στην T2 ακολουθία στη MRI
Οι πρόσφατες απομυελινωτικές βλάβες/εστίες διακρίνονται από τις παλαιότερες καθώς εμπλουτίζονται με την IV έγχυση σκιαγραφικού στη MRI.
2. Η διάρκεια της νόσου κατά την έναρξη της μελέτης
3. Ο χρόνος μέχρι την εμφάνιση της πρώτης (1^{ης}) υποτροπής από την έναρξη του φαρμάκου
4. Νοσηλείες
5. Καταγραφή της κατάστασης των αντισωμάτων κατά του ιού JC

6. Το ποσοστό των περιστατικών με ογκόμορφες βλάβες στην MRI. Ως ογκόμορφη απομυελινωτική βλάβη χαρακτηρίζεται μία συμπαγής βλάβη μεγέθους >2εκ. με συνοδό περιεσσιακό οίδημα.
7. Αλλαγή στην κλίμακα αναπηρίας EDSS με βάση το αρχικό score
Η κλίμακα Kurtzke EDSS χρησιμοποιείται στην κλινική πράξη και την έρευνα και αποτελεί μία μέθοδο ποσοτικοποίησης της αναπηρίας με βάση οχτώ λειτουργικά συστήματα του ανθρώπινου οργανισμού, σε μια κλίμακα από 0 μέχρι 10. Όσο υψηλότερος είναι ο βαθμός στην EDSS, τόσο μεγαλύτερη είναι η αναπηρία. Ως εξέλιξη της αναπηρίας θα θεωρηθεί η αύξηση κατά έναν (1) βαθμό από την αρχική βαθμολογία στην κλίμακα EDSS που θα διαρκέσει πάνω από έξι (6) μήνες.
8. Το ποσοστό των ασθενών που διέκοψαν την ναταλιζουμάμπη ή/και άλλαξαν φαρμακευτική αγωγή λόγω ανεπιθύμητων ενεργειών
9. Αλλαγή στην ποιότητα ζωής των ασθενών βάση ενός ερωτηματολογίου

3. ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

3.1 Τύπος κλινικής μελέτης

Η παρούσα κλινική μελέτη αποτελεί προοπτική, πολυκεντρική μελέτη παρατήρησης ασθενών με υποτροπιάζουσα πολλαπλή σκλήρυνση που λαμβάνουν θεραπεία με ναταλιζουμάμπη ενδοφλεβίως μία φορά κάθε 4 εβδομάδες. Η μελέτη αυτή είναι μη-παραεμβατική, δεν θα υπάρξει δηλαδή καμία αλλαγή στην κλινική διαχείριση των ασθενών όσον αφορά την φαρμακευτική τους αγωγή από τους ερευνητές. Οι τελευταίοι δεν θα αντικαταστήσουν τον θεράποντα ιατρό, ο οποίος θα αποφασίζει μαζί με τον ασθενή για οποιαδήποτε τροποποίηση της θεραπείας.

3.2 Υπολογισμός μεγέθους δείγματος

Ο υπολογισμός του μεγέθους του δείγματος έγινε χρησιμοποιώντας δεδομένα από τη μελέτη AFFIRM για τον αριθμό των νέων ή διευρυμένων βλαβών στη MRI. Καθορίστηκε πως ο υπολογισμός του 95% διαστήματος εμπιστοσύνης του αριθμού των νέων ή πρόσφατα διευρυμένων βλαβών θα γίνει με ακρίβεια ± 1 . Χρησιμοποιώντας την τυπική απόκλιση της μελέτης AFFIRM και θεωρώντας πως ένα ποσοστό

15% των ασθενών δεν θα ολοκληρώσει τη μελέτη και θα αποχωρήσει, ο αριθμός των ασθενών που απαιτείται εκτιμάται να είναι 370.

3.3 Πληθυσμός μελέτης

Στη μελέτη θα εισαχθούν τριακόσιοι εβδομήντα (370) ενήλικοι ασθενείς ηλικίας από δεκαοχτώ (18) έως εξήντα (60) ετών με υποτροπιάζουσα πολλαπλή σκλήρυνση υπό αγωγή με ναταλιζουμάμπη που παρακολουθούνται σε ειδικά κέντρα Πολλαπλής Σκλήρυνσης στην Ευρώπη. Ο αριθμός των κέντρων που θα λάβουν μέρος στη μελέτη ανέρχεται σε οχτώ (8), ενώ από κάθε κέντρο θα πρέπει να συμμετέχουν το ελάχιστο επτά (7) ασθενείς.

3.4 Προβλεπόμενη διάρκεια συμμετοχής στη μελέτη

Οι ασθενείς που θα συμμετέχουν στη μελέτη θα παρακολουθηθούν για 96 εβδομάδες από την εισαγωγή τους σε αυτή.

4. ΕΓΓΡΑΦΗ ΣΥΜΜΕΤΕΧΟΝΤΩΝ

4.1 Κριτήρια εισόδου στη μελέτη

- Ηλικία από 18 έως 60 ετών ανεξαρτήτως φύλου
- Τεκμηριωμένη διάγνωση υποτροπιάζουσας πολλαπλής σκλήρυνσης σύμφωνα με τα κριτήρια McDonald 2010
- Διάρκεια νόσου λιγότερο από πέντε (5) έτη
- Βαθμολογία στην κλίμακα EDSS από 1 μέχρι 5.5 πριν την έναρξη θεραπείας με ναταλιζουμάμπη
- Πρόσφατη MRI (εντός τριών μηνών από την ένταξή τους στη μελέτη)
- Πρόσφατη εξέταση ορού για αντισώματα έναντι του ιού JC πριν να αρχίσουν οι ασθενείς τη θεραπεία με ναταλιζουμάμπη
- Υπογεγραμμένη συγκατάθεση ασθενούς κατόπιν ενημέρωσης

4.2 Κριτήρια αποκλεισμού από τη μελέτη

- Δευτεροπαθώς ή πρωτοπαθώς προϊούσα πολλαπλή σκλήρυνση
- Ιστορικό κακοήθειας
- Γυναίκες που θηλάζουν, κυοφορούν ή σκοπεύουν να κυοφορήσουν κατά τη διάρκεια της μελέτης
- Συμμετοχή σε άλλη κλινική μελέτη

- Αδυναμία συμμόρφωσης με τον παρόν πρωτόκολλο

4.3 Συλλογή και καταγραφή δεδομένων

Τα δεδομένα θα συλλέγονται και θα καταγράφονται χειρόγραφα στο τυπωμένο έντυπο καταγραφής περιστατικού (CRF) για κάθε ασθενή από κατάλληλα εκπαιδευμένο και εξουσιοδοτημένο προσωπικό που θα έχει ορίσει ο κύριος ερευνητής. Όλα τα δεδομένα θα πρέπει να είναι έγκυρα, πλήρη και ακριβή. Στη συνέχεια, τα δεδομένα θα περαστούν σε μία ηλεκτρονική βάση απ' όπου θα πραγματοποιούνται και οι στατιστικές αναλύσεις. Τα συμπληρωμένα χειρόγραφα CRF θα παραμένουν φυλαγμένα σε ειδικές θυρίδες, ενώ στην ηλεκτρονική βάση δεδομένων θα χρησιμοποιηθεί κατάλληλο λογισμικό με σύστημα ασφαλείας και κωδικούς πρόσβασης. Μόνο εξουσιοδοτημένα άτομα θα έχουν πρόσβαση στα δεδομένα και τα αρχεία της μελέτης.

4.4 Αποχώρηση συμμετεχόντων από τη μελέτη

Η συμμετοχή των ασθενών στην παρούσα μελέτη είναι εθελοντική. Εάν οι ασθενείς αποφασίσουν ότι δεν θέλουν να συνεχίσουν, μπορούν να αποσυρθούν από τη μελέτη οποιαδήποτε στιγμή και για οποιονδήποτε λόγο. Το γεγονός αυτό δεν θα επηρεάσει την σχέση τους με τον θεράποντα ιατρό, καθώς επίσης και την φροντίδα και ιατρική τους περίθαλψη, η οποία θα συνεχίσει ως έχει, χωρίς καμία αλλαγή.

5. ΘΕΡΑΠΕΙΑ

5.1 Δοσολογία

Η ναταλιζουμάμπη 300 mg χορηγείται μία φορά κάθε τέσσερις (4) εβδομάδες.

5.2 Τρόπος χορήγησης

Η ναταλιζουμάμπη χορηγείται μέσω ενδοφλέβιας έγχυσης σε νοσοκομεία και κέντρα Πολλαπλής Σκλήρυνσης υπό την παρακολούθηση ιατρικού και νοσηλευτικού προσωπικού. Η έγχυση διαρκεί περίπου μία ώρα ενώ οι ασθενείς παρακολουθούνται και μία ώρα μετά σε περίπτωση εμφάνισης σημείων και συμπτωμάτων αντιδράσεων υπερευαισθησίας.

6. ΕΠΙΣΚΕΨΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΛΕΤΗΣ

Οι ασθενείς που πληρούν όλα τα κριτήρια εισόδου και κανένα από τα κριτήρια αποκλεισμού, θα εισαχθούν στη μελέτη και θα παρακολουθηθούν για χρονικό διάστημα δυο ετών. Κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου, οι ασθενείς θα λαμβάνουν ενδοφλεβίως κάθε 4 εβδομάδες τη ναταλιζουμάμπη στο κέντρο Πολλαπλής Σκλήρυνσης όπου παρακολουθούνται. Εκεί, κάθε δώδεκα (12) εβδομάδες, το ιατρικό προσωπικό της ερευνητικής ομάδας που έχει λάβει την κατάλληλη εκπαίδευση και υπό την επίβλεψη του ερευνητή, θα υποβάλλει τους ασθενείς σε νευρολογική εξέταση καθώς και σε ερωτήσεις σχετικά με την πάθησή τους. Θα καταγράφεται στο CRF η κατάσταση της πάθησης, οποιαδήποτε ανεπιθύμητη ενέργεια, η συνυπάρχουσα φαρμακευτική αγωγή που λαμβάνεται και οποιαδήποτε τροποποίησή της. Κατά την διάρκεια της συνάντησης, οι συμμετέχοντες θα μπορούν να κάνουν ερωτήσεις σχετικά με τη μελέτη και την πάθησή τους. Σε καμία περίπτωση ωστόσο η ενημέρωση αυτή δεν αντικαθιστά τις οδηγίες του θεράποντος ιατρού.

Σε περίπτωση υποτροπής ή εμφάνισης ανεπιθύμητων ενεργειών, θα ζητηθεί από τους ασθενείς να επικοινωνήσουν με το κέντρο και τους θεράποντες ιατρούς. Εάν κριθεί ότι η υποτροπή θα πρέπει να αντιμετωπιστεί με την ενδοφλέβια χορήγηση μεθυλπρεδνιζολόνης, οι ασθενείς θα επισκεφθούν το κέντρο MS ανεξάρτητα από τις προγραμματισμένες επισκέψεις της μελέτης. Όλες οι νοσηλείες ανεξαρτήτου αιτιολογίας θα καταγράφονται στο CRF.

Σχετικά με τις επισκέψεις ελέγχου και παρακολούθησης (monitoring), εκπρόσωπος του χορηγού θα επισκεφθεί κάθε κέντρο πριν την έναρξη της μελέτης αλλά και στη λήξη της, ενώ ενδιάμεσες επισκέψεις θα πραγματοποιούνται κάθε τρεις μήνες. Όλα τα έγγραφα που αφορούν τη μελέτη θα πρέπει να είναι διαθέσιμα στον οριζόμενο ελεγκτή. Στο τέλος κάθε επίσκεψης, ο τελευταίος θα υποβάλλει στον χορηγό γραπτή αναφορά. Επιπλέον, ένας εκπρόσωπος της ρυθμιστικής αρχής μπορεί, ανά πάσα στιγμή, να επιθεωρήσει ένα τμήμα της μελέτης.

7. ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΚΑΙ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΕΙΣ

Κατά την διάρκεια της επίσκεψης στο κέντρο Πολλαπλής Σκλήρυνσης κάθε 12 εβδομάδες, νευρολόγοι θα υποβάλλουν τους ασθενείς σε παθολογική και νευρολογική εξέταση και θα αξιολογούν την αναπηρία τους με βάση την κλίμακα EDSS. Όλοι οι νευρολόγοι που θα συμμετάσχουν στην αξιολόγηση έχουν εκπαιδευτεί καταλλήλως για να χρησιμοποιούν την κλίμακα EDSS. Στην επίσκεψη, θα γίνεται καταγραφή των ζωτικών σημείων, πλήρης νευρολογική εξέταση και θα συμπληρώνονται στο CRF όλες οι πληροφορίες σχετικά με ανεπιθύμητες ενέργειες. Οι συμμετέχοντες θα κληθούν επίσης να συμπληρώσουν ερωτηματολόγιο για την αξιολόγηση της αλλαγής στην ποιότητα ζωής τους.

Οι ασθενείς θα υποβάλλονται σε γενική εξέταση αίματος και βιοχημικό έλεγχο ρουτίνας που θα καταγραφούν κατά την επίσκεψη. Κάθε εβδομάδα (24) εβδομάδες θα γίνεται έλεγχος της κατάστασης των αντισωμάτων έναντι του ιού JC στον ορό των ασθενών με τη μέθοδο ELISA, όπως προβλέπεται για κάθε ασθενή με MS που λαμβάνει ναταλιζουμάμη.

Μαγνητική τομογραφία θα πραγματοποιείται στους 12 και 24 μήνες, ενώ σε ασθενείς με υψηλότερο κίνδυνο για εμφάνιση PML κάθε 3 ή 6 μήνες. Ακολουθείται η ίδια διαδικασία για όλους τους ασθενείς με MS υπό αγωγή με ναταλιζουμάμη. Οι MRI θα γνωματεύονται από ακτινολόγους με εμπειρία στην πολλαπλή σκλήρυνση. Οι καινούργιες MRI θα συγκρίνονται με την αρχική (MRI αναφοράς) κάθε ασθενούς, για έλεγχο των απομυελινωτικών εστιών και παρακολούθηση για την PML.

8. ΘΕΜΑΤΑ ΑΣΦΑΛΕΙΑΣ

8.1 Ανεπιθύμητο συμβάν (Adverse event)

Ορίζεται ως οποιοδήποτε δυσάρεστο ιατρικό συμβάν που παρουσιάζεται σε έναν ασθενή ή αντικείμενο κλινικής έρευνας, στον οποίον έχει χορηγηθεί το φαρμακευτικό προϊόν που μελετάται. Το ανεπιθύμητο αυτό συμβάν μπορεί να είναι ένα σύμπτωμα, ένα εργαστηριακό εύρημα ή

νόσημα που χρονικά συμπίπτει με τη χορήγηση του φαρμάκου και μπορεί να σχετίζεται ή όχι με αυτό.

8.2 Ανεπιθύμητη ενέργεια (Adverse drug reaction)

Ορίζεται ως οποιοδήποτε δυσάρεστο ιατρικό συμβάν που εμφανίζει αιτιολογική συσχέτιση με το φαρμακευτικό προϊόν που χορηγήθηκε.

8.3 Ταξινόμηση ανεπιθύμητων ενεργειών (Grading)

Βαθμός 1: Ήπια: Παροδική ή ήπια δυσφορία χωρίς περιορισμό των καθημερινών δραστηριοτήτων. Δεν απαιτείται ιατρική παρέμβαση.

Βαθμός 2: Μέτρια: Ήπιος έως μέτριος περιορισμός των καθημερινών δραστηριοτήτων. Απαιτείται καθόλου ή ελάχιστη ιατρική παρέμβαση.

Βαθμός 3: Σοβαρή: Σοβαρός περιορισμός ή αδυναμία εκτέλεσης καθημερινών δραστηριοτήτων. Απαιτείται ιατρική παρέμβαση.

Βαθμός 4: Απειλητική για τη ζωή

8.4 Σοβαρή ανεπιθύμητη ενέργεια (Serious adverse event)

Μία ανεπιθύμητη ενέργεια χαρακτηρίζεται ως σοβαρή όταν ανεξάρτητα από τη δόση του χορηγούμενου φαρμάκου:

- Οδηγεί στο θάνατο
- Είναι άμεσα απειλητική για τη ζωή
- Οδηγεί σε πρόκληση ή παράταση νοσηλείας
- Οδηγεί σε πρόκληση εμμένουσας ή σημαντικής αναπηρίας/ανικανότητας
- Προκαλεί συγγενή ανωμαλία ή βλάβη κατά τον τοκετό

8.5 Διαδικασίες αναφοράς

Κάθε ανεπιθύμητη ενέργεια θα πρέπει να καταγράφεται στο CRF του ασθενούς και στα έγγραφα της μελέτης από τον ερευνητή. Σε περίπτωση σοβαρής ανεπιθύμητης ενέργειας θα πρέπει ο χορηγός να ενημερώνεται άμεσα από τον ερευνητή, χρησιμοποιώντας τον ειδικό κωδικό του ασθενούς και όχι το ονοματεπώνυμό του. Θα πρέπει επίσης να κοινοποιηθεί άμεσα στην επιτροπή ερευνών κάθε περίπτωση θανάτου ή απειλητικού για τη ζωή γεγονότος που σχετίζεται με την παρούσα

κλινική μελέτη, καθώς και οποιαδήποτε μη αναμενόμενη ανεπιθύμητη ενέργεια.

9. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Όλοι οι ασθενείς που θα λάβουν έστω και μία δόση ναταλιζουμάμπης από την είσοδό τους στη μελέτη θα συμπεριληφθούν στη στατιστική ανάλυση.

Θα γίνει καταγραφή των εξής χαρακτηριστικών τους:

- Φύλο
- Ηλικία
- Διάρκεια νόσου
- Συννοσηρότητα
- Λήψη φαρμάκων
- Διάρκεια θεραπείας με άλλο ανοσοτροποποιητικό ή ανοσοκατασταλτικό φάρμακο πριν την έναρξη της ναταλιζουμάμπης
- Αιματολογικές και βιοχημικές εξετάσεις
- Μαγνητικές τομογραφίες
- Αλλαγή της βαθμολογίας στην κλίμακα EDSS
- Κάθε ανεπιθύμητη ενέργεια

Τα δεδομένα θα αναλυθούν με την περιγραφική στατιστική. Για τις ποιοτικές μεταβλητές θα υπολογιστεί το ποσοστό των ασθενών σε κάθε κατηγορία, ενώ για τις ποσοτικές θα υπολογιστούν η μέση τιμή, η διάμεσος, η τυπική απόκλιση και το 95% διάστημα εμπιστοσύνης.

Με τη λογιστική παλινδρόμηση (logistic regression) θα εξεταστεί εάν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ των δημογραφικών, κλινικών και εργαστηριακών χαρακτηριστικών των ασθενών στην έναρξη της μελέτης με την εξέλιξη της αναπηρίας και την ανταπόκριση στη θεραπεία.

Ο χρόνος μέχρι την εμφάνιση υποτροπής από την έναρξη της μελέτης θα υπολογιστεί με την ανάλυση επιβίωσης (Kaplan-Meier).

Όλες οι στατιστικές αναλύσεις θα πραγματοποιηθούν σε κατάλληλο λογισμικό (Statistical Package for the Social Sciences, SPSS IBM).

9.1 Ενδιάμεση ανάλυση

Μία ενδιάμεση στατιστική ανάλυση θα πραγματοποιηθεί στους πρώτους 12 μήνες, ώστε να εξαχθούν τα πρώτα αποτελέσματα και συμπεράσματα σχετικά με το κύριο ερευνητικό ερώτημα για αυτή την ομάδα του πληθυσμού.

10. ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΑ ΖΗΤΗΜΑΤΑ

10.1 Εμπιστευτικότητα και προστασία προσωπικών δεδομένων

Τα δεδομένα που θα συλλεχθούν για την παρούσα μελέτη θα αποθηκευτούν στο κέντρο Πολλαπλής Σκλήρυνσης όπου έγινε η ενημέρωση και η εισαγωγή του κάθε ασθενούς. Πρόσβαση στα δεδομένα της μελέτης θα έχουν μόνο εξουσιοδοτημένα άτομα από κάθε κέντρο. Η ταυτότητα των ασθενών και τα άλλα στοιχεία που θα συλλεχθούν θα παραμείνουν απόρρητα. Οι ασθενείς μπορούν να έχουν πρόσβαση στα ιατρικά τους αρχεία όποτε το ζητήσουν. Τα δεδομένα θα αναλυθούν για τους σκοπούς της μελέτης και για επιμέρους αναλύσεις εξαγωγής συμπερασμάτων για τον πληθυσμό που μελετάται. Σε περίπτωση χρησιμοποίησης των δεδομένων σε παρουσιάσεις συνεδρίων ή άλλες δημοσιεύσεις, τα στοιχεία και η ταυτότητα των ασθενών δεν θα αποκαλύπτονται και θα παραμένουν αυστηρά εμπιστευτικές.

10.2 Ηθικοί παράμετροι

Η μελέτη αυτή σχεδιάστηκε και θα διεξαχθεί σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες για την ορθή κλινική πρακτική, τις ηθικές αρχές της Δήλωσης του Ελσίνκι και τις ευρωπαϊκές οδηγίες για τις κλινικές μελέτες (EUCTD). Το παρόν πρωτόκολλο εγκρίνεται από την επιτροπή του Εθνικού Οργανισμού Φαρμάκων.

Προτεραιότητα κατέχει πάντα η ασφάλεια και ευημερία των συμμετεχόντων. Καθ' όλη τη διάρκεια της μελέτης οι ασθενείς διατηρούν την αξιοπρέπεια και αυτονομία τους και έχουν τον τελευταίο λόγο σε ό,τι αφορά την υγεία τους.

10.3 Τροποποιήσεις και αποκλίσεις πρωτοκόλλου

Οποιαδήποτε τροποποίηση του πρωτοκόλλου θα πρέπει να γνωστοποιείται από τον ερευνητή στις ρυθμιστικές αρχές.

10.4 Διαδικασία συγκατάθεσης

Είναι ευθύνη του ερευνητή να ενημερώσει επαρκώς τον ασθενή για τις διαδικασίες, τους σκοπούς, τις μεθόδους, τους πιθανούς κινδύνους και οφέλη της μελέτης. Εφόσον ο ασθενής έχει κατανοήσει τα παραπάνω και συμφωνεί, θα προχωρήσει στην υπογραφή του Εντύπου Συγκατάθεσης Ασθενούς. Ο ασθενής λαμβάνει ένα υπογεγραμμένο αντίγραφο και άλλο ένα λαμβάνει ο ερευνητής ώστε να βρίσκεται στο κέντρο της μελέτης μαζί με τα υπόλοιπα αρχεία. Ο ερευνητής είναι διαθέσιμος να απαντήσει σε οποιαδήποτε ερώτηση που ενδεχομένως να προκύψει σχετικά με την παρούσα μελέτη.

Βιβλιογραφία

1. Kristen M. Krysko, Paul W. O'Connor. The Toronto Observational Study of Natalizumab in Multiple Sclerosis. The Canadian journal of neurological sciences.
2. Richard A Rudick, Michael A Panzara. Natalizumab for the treatment of relapsing multiple sclerosis. *Biologics*. 2008 Jun; 2(2): 189–199.
3. Chris H. Polman, Paul W. O'Connor, Eva Havrdova, Michael Hutchinson, Ludwig Kappos, David H. Miller, J. Theodore Phillips, Fred D. Lublin, Gavin Giovannoni, Andrzej Wajgt, Martin Toal, M.B., M.F.P.M., Frances Lynn. A Randomized, Placebo-Controlled Trial of Natalizumab for Relapsing Multiple Sclerosis. *The New England Journal of Medicine* 2006; 354:899-910.
4. Helmut Butzkueven, Ludwig Kappos, Fabio Pellegrini, Maria Trojano, Heinz Wiendl, Radhika N Patel, Annie Zhang, Christophe Hotermans, Shibeshih Belachew. Efficacy and safety of

- natalizumab in multiple sclerosis: interim observational programme results. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 85(11), 1190-1197.
5. Clerico M., Schiavetti I., De Mercanti S., Piazza F., Gned D., Morra V., Lanzillo R., Ghezzi A., Bianchi A., Salemi G., Realmuto S., Sola P., Vitetta F., Cavalla P., Paolicelli D., Trojano M., Sormani M., Durelli L. Treatment of Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis After 24 Doses of Natalizumab. *JAMA Neurology*, 71(8), 954.
 6. Van Pesch V., Bartholome E., Bissay V., Bouquiaux O., Bureau M., Caekebeke J., Debruyne J., Declercq I., Decoo D., Denayer P., De Smet E., D'hooghe M., Dubois B., Dupuis M., Sankari S., Geens K., Guillaume D., Landegem W., Lysandropoulos A., Maertens de Noordhout A., Medaer R., Melin A., Peeters K., Phan Ba R., Retif C., Seeldrayers P., Symons A., Urbain E., Vanderdonck P., Ingelghem E., Vanopdenbosch L., Vanroose E., Wijmeersch B., Willekens B., Willems C., Sindic C. Safety and efficacy of natalizumab in Belgian multiple sclerosis patients: subgroup analysis of the natalizumab observational program. *Acta Neurologica Belgica*, 114(3), 167-178.
 7. Ladeiraa F., Brazb L., Salgadoc P., Vazd S.,1, Leitãoe L., Félix C., Correiaa A., Martins da Silvaca A., Salgadoe V., Ferreiraf F., Valeh J., de Sá M.,i, Capelad C. A multicenter, non-interventional study to evaluate the disease activity in Multiple Sclerosis after withdrawal of Natalizumab in Portugal. *Clinical Neurology and Neurosurgery*, 105390.
 8. Perumal J., Fox R., Balabanov R., Balcer L., Galetta S., Makh S., Santra S., Hotermans C. and Lee L. Outcomes of natalizumab treatment within 3 years of relapsing-remitting multiple sclerosis diagnosis: a prespecified 2-year interim analysis of STRIVE. *BMC Neurology*, 19(1).
 9. Kaufmann M., Haase R., Proschmann U., Ziemssen T., Akgün K. Real-World Lab Data in Natalizumab Treated Multiple Sclerosis Patients Up to 6 years Long-Term Follow Up. *Frontiers in Neurology*, 9.
 10. Karl F. Masuhr, Marianne Neumann. NEYPOΛOΓIA.

11. Ιωάννη Λογοθέτη, Ιωάννη Μυλωνά. ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΑ
ΛΟΓΟΘΕΤΗ.
12. 2005 Adams and Victor's Principles of Neurology 8th.
13. Τριχόπουλος Δ., Τζώνου Α., Κατσουγιάννη Κ. ΒΙΟΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ.
14. Altman D. Practical Statistics for Medical Research.