

ALLEGATO 1

FAC SIMILE

**Piano di lavoro progettuale
Bando di ricerca sanitaria 2018
"programma 5 per mille anno 2016"**

Tale documento va predisposto su carta intestata della Sezione Provinciale LILT e deve essere firmato e inviato in formato pdf.

Alla Lega Italiana per la Lotta contro i Tumori
Via Alessandro Torlonia, 15
00161 – Roma

Piano di lavoro progettuale

Il sottoscritto Maria Teresa Fattori, in qualità di Presidente della Sezione Provinciale di Ragusa con Sede Legale a Ragusa Via G. Ottaviano s.n., C.F. 92017500882, intende richiedere alla Lega Italiana per la Lotta contro i Tumori – Sede Centrale – un finanziamento nell'ambito del "programma 5 per mille anno 2016" tramite il predisposto "piano di lavoro progettuale".

Titolo del Progetto: Biomarcatori epigenetici per il melanoma cutaneo: valore diagnostico e prognostico degli hotspots di metilazione del DNA

Area tematica di ricerca (come individuate nel bando)

AREA TEMATICA B: Prevenzione secondaria: approcci innovativi nella diagnosi precoce dei tumori in tema di miglioramento della qualità dei percorsi di diagnosi precoce

Durata: Annuale Biennale

Costo finanziato con fondi oggetto del bando di ricerca sanitaria 2018 LILT:

€ 80.000,00

Costo complessivo del progetto (se co-finanziato):

€ -

Responsabile del Progetto con indicazione espressa dell'indirizzo di posta elettronica
Dott. Luca Falzone; email: luca.falzone@unict.it

Sinossi del Progetto / Premesse e razionalità

Razionale: Il melanoma cutaneo rappresenta uno dei tumori solidi con il maggiore impatto negativo per la salute dell'uomo a causa dell'alta aggressività e dell'alto potere metastatico. Ad oggi non ci sono marcatori precoci ed efficaci per la diagnosi di melanoma cutaneo e nonostante la disponibilità di trattamenti farmacologici efficaci si registra ancora un alto numero di morti correlate a questa patologia. Recentemente è stato dimostrato come alterazioni epigenetiche possano predire il rischio di insorgenza tumorale o la risposta ai trattamenti farmacologici.

Obiettivi: Analisi dello status di metilazione del DNA mediante studi bioinformatici, studi funzionali *in vitro* e analisi su campioni di biopsia liquida di soggetti suscettibili e pazienti affetti da melanoma al fine di individuare nuovi marcatori epigenetici diagnostici e prognostici per il melanoma cutaneo o nuovi target terapeutici epigenetici.

Materiali e Metodi: a) Colture cellulari tumorali per studi funzionali di metilazione e de-metilazione; b) Analisi in Droplet Digital PCR (ddPCR) per l'identificazione di hotspots di metilazione nel DNA circolante di soggetti suscettibili

o pazienti con melanoma.

Fasi di Sviluppo: a) Individuazione hotspots di metilazione mediante analisi bioinformatica EpiMethEx; b) Modificazioni epigenetiche *in vitro* mediante sistema CRISPR/Cas9; c) Arruolamento dei soggetti suscettibili e dei pazienti e raccolta dei campioni biologici; d) Estrazione del DNA e analisi in ddPCR e analisi statistica dei dati.

Risultati Attesi: Identificazione di marcatori di metilazione per la diagnosi e prognosi del melanoma cutaneo e sviluppo di strategie di prevenzione secondaria poco invasive e a basso costo.

Piano di lavoro progettuale - articolazione del progetto con dettaglio relativo a:

– **Ruolo della Sezione LILT capofila**

Nell'ambito del presente progetto, la Sezione Provinciale della LILT di Ragusa capofila coordinerà tutte le attività di ricerca tra le Sezioni e i vari Enti partner coinvolti nel progetto. Nel dettaglio la Sezione LILT di Ragusa sarà attivamente impegnata nelle fasi di arruolamento dei soggetti suscettibili per lo sviluppo di melanoma cutaneo a causa di familiarità o pregressi interventi di asportazione di nevi displastici e di raccolta dei campioni presso gli ambulatori LILT di Ragusa nonché della loro processazione e trasporto presso i laboratori di ricerca LILT della Sezione di Catania, partner del progetto. La LILT di Ragusa si occuperà anche della trattazione statistica dei dati sperimentali ottenuti presso i laboratori dell'Università di Catania. La Sezione LILT di Ragusa sarà anche responsabile della gestione dell'intero progetto, del coordinamento tra i vari partner e delle attività di comunicazione, disseminazione e promozione del progetto.

– **Ruolo delle Sezioni LILT coinvolte**

La Sezione Provinciale della LILT di Catania si occuperà, insieme alla LILT di Ragusa, delle fasi di arruolamento dei soggetti suscettibili e dei pazienti nonché della raccolta dei campioni biologici, mettendo a disposizione i campioni già presenti presso la bio-banca istituita dalla LILT presso l'Università di Catania. La Sezione di Catania si occuperà inoltre delle analisi bioinformatiche preliminari. La LILT di Catania, di concerto con la LILT di Ragusa si occuperà inoltre della registrazione, raccolta ed elaborazione dei dati anamnestici dei soggetti arruolati.

– **Tempi di realizzazione, non superiori a 24 mesi dalla data di approvazione del progetto**

Time frame:

1 – 3 mesi: Analisi bioinformatica con EpiMethEx

1 – 9 mesi: Realizzazione esperimenti *in vitro* di metilazione e de-metilazione sito-specifica

3 – 12 mesi: Arruolamento di soggetti suscettibili, raccolta campioni ed estrazione DNA;

12 - 22 mesi: Analisi in digital Droplet PCR;

20 – 24 mesi: Elaborazione dei risultati e analisi statica dei dati.

Risultati attesi dalla ricerca, con specifica evidenza agli approcci con elevato livello di trasferibilità sociale, in particolare all'interno del SSN

Questo studio consentirà di individuare biomarcatori epigenetici di metilazione in grado di supportare i percorsi diagnostici e terapeutici dei pazienti affetti da melanoma cutaneo. Il ricorso a tecniche minimamente invasive e altamente sensibili come la biopsia liquida accoppiata al sistema di rilevazione ddPCR consentirà di individuare in maniera efficace alterazioni epigenetiche precoci predittive di rischio di insorgenza del melanoma cutaneo e nel contempo di monitorare in maniera costante lo stato di salute dei pazienti oncologici durante e dopo il trattamento anti-tumorale in modo da individuare precocemente la ricomparsa della malattia altrimenti irrilevabile con le attuali metodiche di diagnosi strumentale. I risultati attesi promettono di avere un significativo impatto sia a livello locale sia a livello nazionale poiché gli interventi di ricerca proposti permetteranno di sviluppare nuovi sistemi diagnostici e prognostici più efficaci e specifici. L'utilizzo del sistema di analisi in droplet digital PCR per l'identificazione di nuovi biomarcatori diagnostici e prognostici avrà una forte ricaduta per il SSN sia in termini di miglioramento delle strategie diagnostiche precoci sia in termini di riduzione della spesa sanitaria, legata a terapie farmacologiche inefficaci e a trattamenti anti-tumorali tardivi in stadio avanzato di malattia. Ciò consentirà anche di ridurre i giorni di ospedalizzazione dei pazienti.

Risultati attesi dalla ricerca, con specifica evidenza riguardo lo sviluppo di reti collaborative fra le Sezioni LILT e qualificate strutture operanti in ambito sanitario e di ricerca

La Sezione Provinciale della LILT di Ragusa già da anni collabora con diverse altre sezioni LILT regionali e

nazionali nell'ambito di diversi progetti di ricerca. Inoltre, la LILT di Catania ha stipulato specifici accordi di collaborazione con l'Università di Catania e in particolare con il Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche. Nell'ambito della presente proposta progettuale, le collaborazioni poste in essere tra le diverse Sezioni Provinciali LILT e le altre strutture ospedaliere e di ricerca consentiranno di rafforzare ulteriormente le numerose attività di prevenzione e ricerca portate avanti nel territorio Catanese, interessando anche altre province della Sicilia e di altre regioni di Italia. In tal modo verrà creata una vera e propria rete collaborativa coinvolgente più territori in modo da diffondere in maniera capillare ed eterogenea le finalità di ricerca proposte volte al potenziamento delle strategie di prevenzione secondaria. Il coinvolgimento delle strutture ospedaliere e di riconosciuti enti di ricerca come l'Università di Catania permetterà di valutare in maniera critica ed obiettiva i risultati raggiunti nel presente progetto, con l'obiettivo finale di portare ad un effettivo miglioramento delle pratiche diagnostiche, prognostiche e terapeutiche utilizzate nel management del melanoma cutaneo. Il coinvolgimento di diverse sezioni LILT dislocate su territori diversi permetterà di diffondere in maniera più efficace i risultati ottenuti e favorire la diffusione nella popolazione generale e nella popolazione suscettibile delle informazioni ottenute potenziando le attività di sensibilizzazione in materia di prevenzione oncologica. La disseminazione dei risultati sarà resa possibile dalla pubblicazione di articoli scientifici riportanti i dati ottenuti e dall'organizzazione di eventi e conferenze scientifiche per informare la comunità medica delle nuove tecnologie disponibili a supporto delle procedure diagnostiche e delle pratiche terapeutiche. Infine, la LILT si occuperà anche di diffondere i precetti dell'importanza della prevenzione secondaria presso scuole e luoghi di lavoro mediante l'organizzazione di dibattiti ed eventi.

Sezioni LILT

- Sezione Provinciale della LILT di Ragusa
- Sezione Provinciale della LILT di Catania

Altre Strutture

- Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche, Università di Catania.

Enti (partner) coinvolti nel progetto (specificando ruolo ente e relativo responsabile - esempio Mario Bianchi, Consiglio Nazionale delle Ricerche, unità operativa):

- Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche (BIOMETEC) – Laboratory Program in Liquid Biopsy for Early Detection of Cancer, Sezione di Patologia generale, clinica e oncologica, Università di Catania: Responsabile: **Dott. Luca Falzone**

Il Dipartimento BIOMETEC si occuperà dell'esecuzione delle analisi molecolari ed epigenetiche oggetto di studio. In particolare presso il Dipartimento BIOMETEC è presente il laboratorio di ricerca della LILT di Catania attrezzato con tutte le strumentazioni necessarie per lo svolgimento delle attività di ricerca previste. In tale laboratorio è allocata la droplet digital PCR che verrà utilizzata per la validazione dei biomarcatori di diagnosi precoce per il melanoma cutaneo.

Indicazione delle modalità di coinvolgimento dei giovani, del loro numero e della loro retribuzione

Come indicato nella tabella "Voci di Spesa", il 37,5% dei fondi richiesti (€ 30.000,00) verrà utilizzato per la stipula di n.2 contratti di borse di ricerca destinate a giovani neo-laureati (under 35 anni) in ambito biomedico (Biotecnologici, Biologi, Tecnici di Laboratorio) che si occuperanno di alcune fasi progettuali. Ciò permetterà ai 2 giovani ricercatori di accrescere le loro competenze tecniche e professionali. I giovani verranno attivamente coinvolti anche nelle fasi di arruolamento dei pazienti che coinvolgeranno attivamente i giovani volontari che operano presso le sezioni Provinciali della LILT di Ragusa e Catania e nelle rispettive delegazioni comunali. La partnership con l'Università di Catania, dove verranno svolte alcune delle attività di ricerca, permetterà a giovani studenti dei Corsi di Laurea in ambito biomedico di svolgere tirocini altamente formativi e prendere parte ad alcune delle fasi sperimentali proposte in questo progetto. L'attenzione che la LILT di Ragusa e Catania rivolgono al coinvolgimento attivo dei giovani sia nelle attività di ricerca sia in quelle di volontariato è testimoniata dal fatto che il responsabile per il Dipartimento BIOMETEC è un giovane ricercatore (Under 30 anni) che da alcuni anni svolge una funzione attiva all'interno del dipartimento ma anche nei laboratori di ricerca della LILT di Catania. Inoltre anche il responsabile del progetto è un giovane ricercatore (under 30) impegnato da anni nelle attività di ricerca promosse dalle Sezioni Provinciali LILT di Catania e Ragusa.

Estremi per ricevere il finanziamento

Codice IBAN – LILT RAGUSA
 IT 44F0503617025CC0050888145
 BANCA AGRICOLA POPOLARE DI RAGUSA AGENZIA DI IBLA – PIAZZA DUOMO, 27
 97100 RAGUSA

Costo complessivo del Progetto articolato per voci di spesa

VOCI DI SPESA	COSTO COMPLESSIVO	QUOTA FINANZIATA CON FONDI 5 PER MILLE
Personale di ricerca (n.2 contratti di borse di ricerca destinate a giovani neo-laureati (under 35 anni) in ambito biomedico (Biotecnologici, Biologi, Tecnici di Laboratorio) dell'importo di € 15.000,00 ciascuno)	€ 30.000,00	€ 30.000,00
Apparecchiature (ammortamento, canone di locazione/leasing)	€ -	€ -
Materiale d'uso destinato alla ricerca: 1) € 10.000,00 per acquisto di materiali e reagenti per la realizzazione degli studi in vitro (Terreni di coltura, enzimi di restrizione, fattori di crescita, plasmidi, reagenti per CRISPR/Cas9, acquisto colture cellulari; 2) € 20.000,00 per acquisto di reagenti di biologia molecolare per le analisi in ddPCR (Kit di estrazione DNA circolante per campioni di biopsia liquida, droplet generation oil, droplet master mix, sonde di metilazione ddPCR, consumabili e plastiche ddPCR.	€ 30.000,00	€ 30.000,00
Spese di organizzazione (Organizzazione di 2 convegni scientifici (Spese di organizzazione pari a € 1.500,00 per ogni convegno) inerenti le tematiche di ricerca affrontate nel progetto. Il primo convegno organizzato prima dell'inizio delle attività e un secondo convegno finale per la presentazione dei risultati finali raggiunti dal progetto)	€ 3.000,00	€ 3.000,00
Elaborazione dati (Spese relative alle analisi bioinformatiche condotte con il tool EpiMethEx; spese relative all'analisi dei risultati ddPCR ottenuti dalle biopsie liquide)	€ 5.000,00	€ 5.000,00
Spese amministrative	€ 8.000,00	€ 8.000,00
Altro (Stampa e distribuzione di opuscoli informativi, stampa di questionari anamnestici e fotocopie, spese di pubblicazione articoli scientifici)	€ 4.000,00	€ 4.000,00
TOTALE	€ 80.000,00	€ 80.000,00

Alla presente proposta deve essere allegato:

- il curriculum vitae del Responsabile del progetto di ricerca e dei Responsabili di eventuali enti partecipanti al medesimo;
- la complessiva documentazione di progetto.

In fede,

Il Presidente della Sezione Provinciale

Firma Mano Teresa Faltoni

Il Responsabile del Progetto

Firma Luca Tedone

Luogo e Data 08/01/2019