

## **Sviluppo e validazione di esperimenti di Next Generation Sequencing per l'ottimizzazione della stratificazione del rischio in pazienti affetti da Mieloma Multiplo**

- ***Background, rationale ed obiettivi del progetto***

Grazie allo sviluppo di nuovi farmaci, la terapia del mieloma multiplo (MM) ha raggiunto notevoli progressi negli ultimi anni, con un netto miglioramento delle aspettative di sopravvivenza e di qualità di vita dei pazienti MM. In particolare, l'ampliamento dell'armamentario terapeutico ha determinato un aumento del tasso e della profondità di risposta, portando molti pazienti ad un livello di malattia residua (malattia minima residua, MMR) non rilevabile con le tecnologie in uso.

Le evidenze generate dagli studi sulla MMR nel MM hanno mostrato che nei pazienti considerati MMR negativi, sia la PFS che la OS si sono rivelate significativamente superiori rispetto a quelle dei pazienti MMR-positivi. Ciò ha portato ad una ridefinizione delle categorie di risposta, al fine di includere lo studio della MMR nella valutazione della risposta alle terapie.

I pazienti affetti da MM sono attualmente monitorati durante il decorso della malattia mediante biopsie del midollo osseo "*single-site*". Questa è una procedura invasiva, che crea un *bias* di campionamento e fornisce un profilo molecolare limitato e, quindi, un quadro parziale delle caratteristiche della malattia, in quanto non in grado di catturare l'eterogeneità dei sub-cloni e riflettere la complessità dell'intero stato della malattia. Quest'ultimo aspetto potrebbe spiegare la presenza di discrepanze comunemente evidenziate all'interno dei risultati biologici e delle evidenze cliniche, che possono ostacolare una corretta gestione del paziente con MM. Inoltre, l'invasività della metodica di valutazione su aspirato midollare non sempre permette una valutazione tempestiva di eventuale progressione della malattia e l'esecuzione di un singolo aspirato midollare nella pratica clinica potrebbe non essere informativo sulle dimensioni del tumore, né sul panorama genomico della malattia.

Per questo motivo sarebbe auspicabile l'impiego di una nuova strategia diagnostica, in grado di raccogliere informazioni sull'intera popolazione tumorale diffusa nell'organismo. In particolare, metodiche di imaging quali la PET/TC 18F-FDG, abbinate a tecniche sensibili per rilevare la MMR all'interno e all'esterno del midollo osseo, possono contribuire a identificare una risposta metabolica alla terapia.

Recentemente, diversi reports hanno dimostrato, principalmente nei tumori solidi, ma anche nel MM, che le biopsie liquide rappresentano una vera promessa per il monitoraggio della malattia. La biopsia liquida è una procedura non invasiva, che può fornire una rapida lettura dello stato della malattia e potrebbe dare una visione più completa del profilo molecolare del tumore, come valutato sulle plasmacellule del midollo osseo (BM-PC). Inoltre, la “biopsia liquida” potrebbe estendere la capacità di indagine sull’eterogeneità spaziale nel MM, specialmente se utilizzata a completamento di altre indagini diagnostiche di imaging non invasive, utili a descrivere la distribuzione della malattia.

Pertanto, il presente progetto è volto alla caratterizzazione molecolare dei pazienti con MM nella fase di esordio della malattia e al monitoraggio della dinamica tumorale in corso di trattamento.

- **Materiali e metodi**

Indagini bio-molecolari su pazienti MM arruolati in trials clinici sperimentali (spontanei e *company-sponsored*) basate su *Next Generation Sequencing* (NGS)

- **Risultati e impatto attesi.**

Recentemente, diversi studi hanno dimostrato che le biopsie liquide rappresentano una vera promessa per il monitoraggio della malattia, poiché le molecole circolanti rispecchiano l’intera eterogeneità del tumore e potrebbero essere utilizzate come marcatori diagnostici.

Ci si aspetta di ottenere una definizione e una descrizione accurata del carico tumorale dei pazienti all’esordio della malattia e di avere un monitoraggio tempestivo dell’andamento di risposta alla terapia, mediante metodiche non invasive.

- **Attività formativa e di ricerca dell’assegnista.**

Per la realizzazione di questo progetto e per garantire la crescita professionale del ricercatore, saranno organizzati incontri individuali periodici per valutare lo stato di avanzamento del progetto e per garantire il raggiungimento di tutti gli obiettivi. Saranno inoltre previsti incontri di laboratorio settimanali e *meeting* d’Istituto per l’approfondimento scientifico-culturale. Infine, il partecipante avrà la possibilità di partecipare a congressi Nazionali ed Internazionali.

- **Competenze richieste:**

Per lo svolgimento del progetto di ricerca si richiedono le seguenti competenze:

- Laurea magistrale/specialistica in Scienze Biologiche, oppure in Biotecnologie;
- Pregressa esperienza in metodiche di biologia molecolare di base di almeno 1 anno (escluso il periodo di tirocinio finalizzato all'elaborato di tesi di laurea);
- Esperienza di almeno 1 anno nell'esecuzione di metodiche di *Next Generation Sequencing*, con expertise tale da garantire lo svolgimento della metodica in autonomia;
- Conoscenza della lingua inglese;
- Propensione a lavorare in gruppo.

La pregressa esperienza in ambito ematologico, con specifico focus nel MM, e l'esperienza nella gestione e manipolazione di campioni biologici per la diagnostica ematologica costituiscono criteri di selezione preferenziali.

## **Sviluppo e validazione di esperimenti di Next Generation Sequencing per l'ottimizzazione della stratificazione del rischio in pazienti affetti da Mieloma Multiplo**

Le evidenze generate dagli studi sulla malattia minima residua (MMR) nel mieloma multiplo (MM) hanno mostrato che i pazienti MMR negativi hanno esiti clinici significativamente superiori rispetto ai pazienti MMR-positivi. Ciò ha portato ad una ridefinizione delle categorie di risposta, al fine di includere lo studio della MMR nella valutazione di risposta alle terapie. Recentemente, diversi reports hanno dimostrato che la biopsia liquida è una procedura non invasiva che può fornire una visione più completa del profilo molecolare del tumore e dello stato della malattia.

Il presente progetto è volto alla caratterizzazione molecolare dei pazienti con MM nella fase di esordio della malattia e al monitoraggio della dinamica tumorale in corso di trattamento mediante indagini bio-molecolari basate su *Next Generation Sequencing* (NGS) effettuate su pazienti MM.

## **Development and validation of Next Generation Sequencing experiments for optimizing risk stratification in patients with Multiple Myeloma**

Recent studies have shown that minimal residual disease (MRD) negativity translate into significantly superior clinical outcomes for multiple myeloma (MM) patients, with respect to MRD-positive patients. This has led to a redefinition of response criteria to include MRD evaluation in the assessment of response to therapies. Furthermore, several reports have shown that liquid biopsy is a noninvasive procedure that can provide a more comprehensive view of the tumor molecular profile and disease status.

The present project is therefore aimed at molecular characterization of patients with MM in the disease onset phase and monitoring of tumor dynamics during treatment by means of Next Generation Sequencing (NGS)-based bio-molecular investigations.



DIPARTIMENTO DI SCIENZE MEDICHE E CHIRURGICHE

Modulo richiesta assegno

<b>TITOLO DEL PROGETTO: Sviluppo e validazione di esperimenti di Next Generation Sequencing per l'ottimizzazione della stratificazione del rischio in pazienti affetti da Mieloma Multiplo</b>			
<b>TUTOR</b>			
ASSEGNO FINANZIATO DA PROGETTO COMPETITIVO <i>(barrare la casella corrispondente)</i>	<input type="checkbox"/> SI	<input checked="" type="checkbox"/> NO	
SE IL FINANZIAMENTO È COMPETITIVO L'ENTE FINANZIATORE			
PROGETTO/ATTIVITÀ A SCOPO COMMERCIALE <i>(es. sperimentazione profit)</i>	<input type="checkbox"/> SI	<input checked="" type="checkbox"/> NO	
CARATTERISTICHE DEL PROGETTO <i>(biomedico/osservazionale/clinico-interventistico/multidisciplinare)</i>	multidisciplinare		
STATO DI APPROVAZIONE DEL PROGETTO DA PARTE DEL COMITATO ETICO <i>(se necessario per il tipo di studio barrare o evidenziare la casella corrispondente)</i>	<input checked="" type="checkbox"/> Ottenuto	<input type="checkbox"/> Da ottenere	
<b>DESCRIZIONE DEL PROGETTO</b> <i>(max 800 parole)</i>			
<p>(1) obiettivi, (2) materiali e metodi, (3) risultati/impatto attesi, (4) attività formativa e (5) di ricerca dell'assegnista</p> <p><b>Obiettivi.</b></p> <p>Grazie allo sviluppo di nuovi farmaci, la terapia del mieloma multiplo (MM) ha raggiunto notevoli progressi negli ultimi anni, con un netto miglioramento delle aspettative di sopravvivenza e di qualità di vita dei pazienti MM. In particolare, l'ampliamento dell'armamentario terapeutico ha determinato un aumento del tasso e della profondità di risposta, portando molti pazienti ad un livello di malattia residua (malattia minima residua, MMR) non rilevabile con le tecnologie in uso.</p> <p>Le evidenze generate dagli studi sulla MMR nel MM hanno mostrato che nei pazienti considerati MMR negativi, sia la PFS che la OS si sono rivelate significativamente superiori rispetto a quelle dei pazienti MMR-positivi. Ciò ha portato ad una ridefinizione delle categorie di risposta, al fine</p>			



## DIPARTIMENTO DI SCIENZE MEDICHE E CHIRURGICHE

di includere lo studio della MMR nella valutazione della risposta alle terapie.

I pazienti affetti da MM sono attualmente monitorati durante il decorso della malattia mediante biopsie del midollo osseo "*single-site*". Questa è una procedura invasiva, che crea un *bias* di campionamento e fornisce un profilo molecolare limitato e, quindi, un quadro parziale delle caratteristiche della malattia, in quanto non in grado di catturare l'eterogeneità dei sub-cloni e riflettere la complessità dell'intero stato della malattia. Quest'ultimo aspetto potrebbe spiegare la presenza di discrepanze comunemente evidenziate all'interno dei risultati biologici e delle evidenze cliniche, che possono ostacolare una corretta gestione del paziente con MM. Inoltre, l'invasività della metodica di valutazione su aspirato midollare non sempre permette una valutazione tempestiva di eventuale progressione della malattia e l'esecuzione di un singolo aspirato midollare nella pratica clinica potrebbe non essere informativo sulle dimensioni del tumore, né sul panorama genomico della malattia.

Per questo motivo sarebbe auspicabile l'impiego di una nuova strategia diagnostica, in grado di raccogliere informazioni sull'intera popolazione tumorale diffusa nell'organismo. In particolare, metodiche di imaging quali la PET/TC 18F-FDG, abbinate a tecniche sensibili per rilevare la MMR all'interno e all'esterno del midollo osseo, possono contribuire ad identificare una risposta metabolica alla terapia.

Recentemente, diversi reports hanno dimostrato, principalmente nei tumori solidi, ma anche nel MM, che le biopsie liquide rappresentano una vera promessa per il monitoraggio della malattia. La biopsia liquida è una procedura non invasiva, che può fornire una rapida lettura dello stato della malattia e potrebbe dare una visione più completa del profilo molecolare del tumore, come valutato sulle plasmacellule del midollo osseo (BM-PC). Inoltre, la "biopsia liquida" potrebbe estendere la capacità di indagine sull'eterogeneità spaziale nel MM, specialmente se utilizzata a completamento di altre indagini diagnostiche di imaging non invasive, utili a descrivere la distribuzione della malattia.

Pertanto, il presente progetto è volto alla caratterizzazione molecolare dei pazienti con MM nella fase di esordio della malattia e al monitoraggio della dinamica tumorale in corso di trattamento.

### **Materiali e metodi.**

Indagini bio-molecolari su pazienti MM arruolati in trials clinici sperimentali (spontanei e *company-sponsored*) basate su *Next Generation Sequencing* (NGS)



## DIPARTIMENTO DI SCIENZE MEDICHE E CHIRURGICHE

### **Risultati e impatto attesi.**

Recentemente, diversi studi hanno dimostrato che le biopsie liquide rappresentano una vera promessa per il monitoraggio della malattia, poiché le molecole circolanti rispecchiano l'intera eterogeneità del tumore e potrebbero essere utilizzate come marcatori diagnostici.

Ci si aspetta di ottenere una definizione e una descrizione accurata del carico tumorale dei pazienti all'esordio della malattia e di avere un monitoraggio tempestivo dell'andamento di risposta alla terapia, mediante metodiche non invasive.

### **Attività formativa e di ricerca dell'assegnista.**

Per la realizzazione di questo progetto e per garantire la crescita professionale del ricercatore, saranno organizzati incontri *one-to-one* periodici per valutare lo stato di avanzamento del progetto e per garantire il raggiungimento di tutti gli obiettivi. Saranno inoltre previsti incontri di laboratorio settimanali e *meeting* d'Istituto per l'approfondimento scientifico-culturale. Infine, il partecipante avrà la possibilità di partecipare a congressi Nazionali ed Internazionali.

## **DESCRIZIONE DELLE ATTIVITÀ DELL'ASSEGNIISTA**

(per i **nuovi** assegni: max 400 parole; competenze richieste, scansione temporale della formazione, scansione temporale dell'attività, obiettivi primari e secondari)

### **Competenze richieste:**

Per lo svolgimento del progetto di ricerca si richiedono le seguenti competenze:

- Laurea magistrale/specialistica in Scienze Biologiche, oppure in Biotecnologie;
- Progressiva esperienza in metodiche di biologia molecolare di base di almeno 1 anno (escluso il periodo di tirocinio finalizzato all'elaborato di tesi di laurea);
- Esperienza di almeno 1 anno nell'esecuzione di metodiche di *Next Generation Sequencing*, con expertise tale da garantire lo svolgimento della metodica in autonomia;
- Conoscenza della lingua inglese;



## DIPARTIMENTO DI SCIENZE MEDICHE E CHIRURGICHE

- Propensione a lavorare in gruppo.

La pregressa esperienza in ambito ematologico, con specifico focus nel MM e nella gestione e manipolazione di campioni biologici per la diagnostica ematologica costituiscono criteri di selezione preferenziali.

### **Scansione temporale dell'attività e obiettivi**

L'obiettivo principale dello studio sarà la caratterizzazione molecolare dei pazienti con MM nella fase di esordio della malattia e in corso di trattamento, mediante valutazione del *tumour burden* nel midollo osseo e nel sangue periferico. Il *tumour burden* sarà definito in ciascun paziente mediante analisi molecolare del riarrangiamento del gene della catena pesante (IgH) dell'immunoglobulina specifico del paziente e stimando la frazione tumorale (TF) all'interno del *cell-free* DNA (cfDNA). La prima strategia prevede l'impiego di marcatori specifici del paziente, che dovranno essere identificati all'esordio eseguendo uno screening molecolare del gene IgH. La seconda strategia è volta alla definizione della TF, valutando la presenza di alterazioni del numero di copie (CNA) all'interno del cfDNA.

Il progetto si articolerà in 4 *topics* e fasi principali:

1. Definizione del clonotipo di pazienti MM di nuova diagnosi
2. Valutazione del profilo *Copy Number* e della TF
3. Monitoraggio della dinamica della malattia in corso di trattamento
4. Integrazione dei dati ottenuti

Per garantire il successo del progetto è richiesto un aggiornamento costante del ricercatore negli argomenti oggetto d'indagine mediante lo studio di articoli scientifici pubblicati e l'aggiornamento costante mediante partecipazione a Congressi Nazionali ed Internazionali.





DIPARTIMENTO DI SCIENZE MEDICHE E CHIRURGICHE

<p>(per i <b>rinnovi</b>: max 600 parole – da integrare con la relazione dell'assegnista; formazione raggiunta, attività effettuata, obiettivi raggiunti/competenze acquisite, formazione ancora da acquisire (se pertinente), scansione temporale dell'attività durante il rinnovo)</p>	



DIPARTIMENTO DI SCIENZE MEDICHE E CHIRURGICHE

<b>Commissione proposta</b> 3 commissari + 1 supplente	Prof.ssa Elena Zamagni
	Dott.ssa Carolina Terragna
	Dott. Vittorio Stefoni
	Dott.ssa Emanuela Ottaviani

*Scheda attività assistenziale (se prevista)*

<b>ATTIVITÀ ASSISTENZIALI DELL'ASSEGNIATO/ N. ORE SETTIMANA (max 18 ore)</b>
Non applicabile
<b>AZIENDA SANITARIA PRESSO CUI SI SVOLGERÀ L'ATTIVITÀ</b>
IRCCS AOU di Bologna, UOC Ematologia

Si ricorda che, come previsto dagli Accordi sull'impiego nell'attività assistenziale dei Titolari di assegni di ricerca, sottoscritti tra l'Università di Bologna e le Aziende Ospedaliere di riferimento, una volta stipulato il contratto con il vincitore della selezione, il tutor deve consegnare alla Direzione Medica Ospedaliera la relativa modulistica, nella quale andranno riportate le attività qui segnalate.