

NEUROBLASTOMA: coordinamento delle attività cliniche in Italia

Sin dal 1976, i ricercatori dell'Istituto Giannina Gaslini (IGG) coordinano nell'ambito dell'AIEOP l'attività del "Gruppo di Lavoro Neuroblastoma", che ha il compito di attivare e condurre i protocolli diagnostici e terapeutici e stimolare la ricerca scientifica riguardante questa neoplasia.

Nel 1994 il Gaslini è stato uno dei 4 centri europei fondatori del gruppo cooperativo europeo SIOPEN, che oggi conta 26 stati membri.

Nel 2016 è stato riconosciuto dalla Regione Liguria come centro di riferimento per il neuroblastoma.

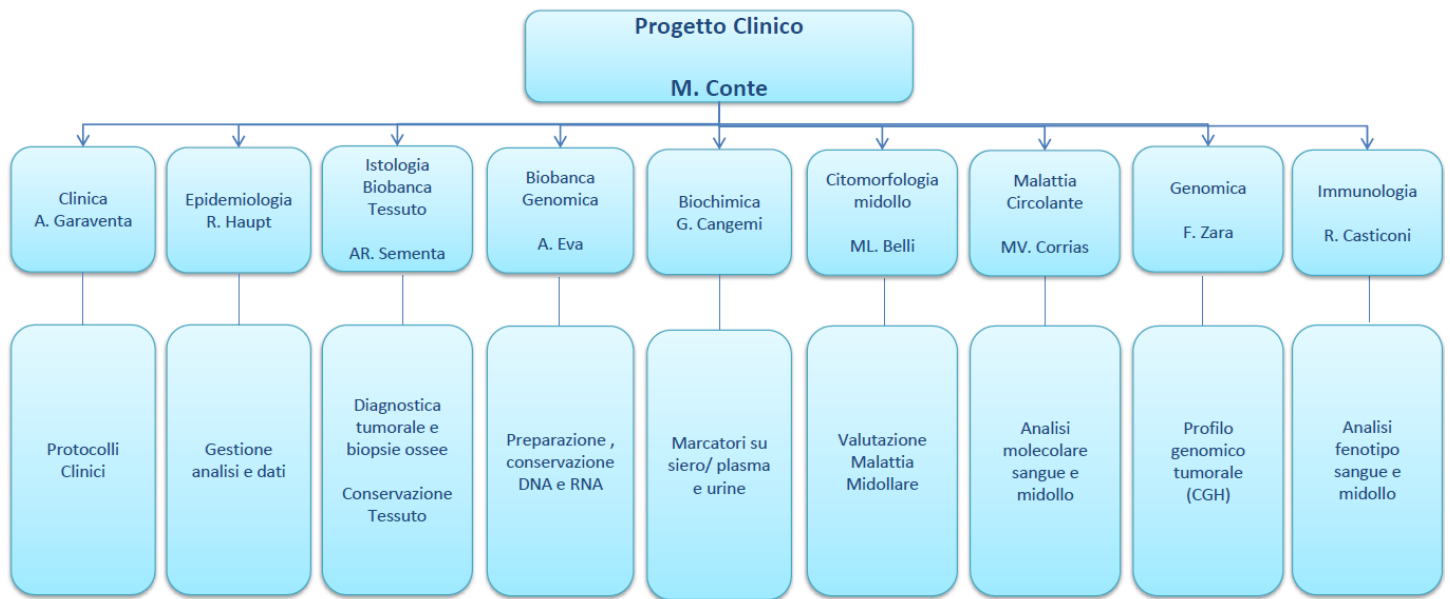
Nel 2017 è stato inserito tra i centri di riferimento europei all'interno del Paediatric Cancer European Reference Network (PaedCan ERN).

Tre importanti strumenti/servizi sono presenti in IGG:

1. Il **Registro Italiano Neuroblastoma (RINB)**, attivo sin dal 1979 annovera ad oggi oltre 4000 casi NB. Dal 2016 risiede su una piattaforma informatica accessibile via web da tutti i centri AIEOP.
2. Il **servizio di centralizzazione e analisi del tessuto tumorale ed altri materiali biologici**. Grazie a tale servizio il materiale biologico dei bambini con neuroblastoma viene inviato dai centri periferici al Gaslini per un'adeguata caratterizzazione isto-patologica, biochimica e genetica all'esordio così come durante il follow-up.
3. La **Biobanca Integrata Tessuto-genomica – BIT Gaslini**, avviata nel 2008, raccoglie il materiale centralizzato dai centri AIEOP e istituti Europei, lo processa e cataloga , genera un database molecolare e conserva materiale biologico a disposizione dei ricercatori. E' riconosciuta e accreditata dalla Regione Liguria e ha stabilito un network con il Registro Italiano Neuroblastoma, il Cineca , l'Institut de Investigación Sanitaria La Fe di Valencia, il DIBRIS dell'Università di Genova, la rete di Biobanche Liguri, le biobanche afferenti al network di eccellenza ENCCA (che include le banche di tessuto pediatrico europeo) ed il network europeo BBMRI.

Obiettivi

1. Continuare a garantire un'elevata ed omogenea qualità nell'inquadramento clinico, istologico e biologico e nel trattamento dei bambini affetti da neuroblastoma afferenti all' AIEOP;
2. Mantenere un data base clinico che garantisca l'aggiornamento in tempo reale di tutti i pazienti italiani con neuroblastoma oltre che il loro follow-up e che sia integrato con le banche-dati dei vari laboratori afferenti al Gruppo di lavoro Neuroblastoma.
3. Garantire materiale e dati per approfondire il significato in termini biologici e prognostici delle caratteristiche studiate e sostenere un maggior interscambio tra biologia di base e clinica.
4. Favorire lo sviluppo di linee di ricerca avanzata e traslazionale.



Laboratori e servizi centralizzati del Progetto Italiano Neuroblastoma

Il **RINB** continuerà la sua attività presso l'Istituto G. Gaslini come negli anni precedenti, avendo dimostrato di rispondere in maniera esaustiva e con tempistica adeguata alle richieste pervenute dai vari ricercatori sia interni che esterni. Dal Dicembre 2016 il registro è stato trasferito sulla piattaforma web di Cineca/AIEOP che permette ad ogni centro la registrazione e aggiornamento online dei pazienti e consente la condivisione di parte dei dati con il registro Mod. 1.01 che ha lo scopo di monitorare tutti i pazienti con malattie oncologiche diagnosticati e trattati presso centri AIEOP. L'integrazione con il modulo **SmartLab** (vedi oltre) permetterà inoltre che i dati di interesse per il registro prodotti dai laboratori centralizzati vengano trasferiti in automatico sul registro stesso evitando quindi rischi di errori di trascrizione oltre a ridurre i tempi per l'inserimento degli stessi. Come già previsto nel protocollo gestionale interno, ai ricercatori che ne faranno richiesta approvata dal coordinamento del GdL NB il RINB fornirà data base "congelati" riguardanti i pazienti oggetto dello studio specifico così come eventuale supporto biostatistico per l'analisi degli stessi.

Caratterizzazione. La caratterizzazione anatomo-patologica, molecolare e biochimica dei tumori avverrà con le modalità consuete presso l'Istituto G. Gaslini. Le procedure di centralizzazione realizzate a Genova, e garantite dalla Fondazione Italiana Neuroblastoma, hanno permesso di fornire standard diagnostici di assoluta qualità a tutti i pazienti affetti da NB garantendo l'inquadramento e il trattamento secondo protocolli europei (SIOPEN) e consentendo di effettuare gli studi biologici previsti dai protocolli stessi.

Bio-banca integrata: La biobanca integrata BIT presso l'Istituto G. Gaslini raccoglie il tessuto tumorale e il materiale genetico (DNA e RNA) da esso derivato. Tale materiale viene messo a disposizione di chi ne fa richiesta dopo approvazione da parte del comitato scientifico della biobanca. Il restante materiale biologico (urine, sangue periferico e sangue midollare) viene distribuito ai laboratori indicati sopra che effettuano indagini specifiche dipendenti dal protocollo clinico e che lo conservano in appositi Biorepositories. In caso di materiale in eccesso la BIT-Gaslini provvede a conservare anche tale materiale.

CONTRIBUTO DELLE SINGOLE UNITA'

Unità di Oncologia Pediatrica (Dott. Garaventa)

L'U.O. di Oncologia Pediatrica dell'Istituto Gaslini coordina l'inquadramento diagnostico e il programma terapeutico dei bambini che si riferiscono ai centri AIEOP, lo sviluppo e l'applicazione dei protocolli terapeutici italiani ed internazionali di prima linea e sviluppa autonomamente a livello AIEOP o in coordinamento con l'ITCC e la SIOPEN protocolli terapeutici di salvataggio di fase I-II che potrebbero essere anche di interesse specifico per le case farmaceutiche.

Diversi sono i protocolli di studio e terapia attualmente in corso a livello europeo che richiedono un grande impegno clinico per una corretta attuazione e raccolta dati: SIOPEN HR02, LINES, NB-Spinal Canal Invasion, e diverse sono le analisi di studi clinici in corso: primo protocollo europeo NB alto rischio, risultati a lungo termine del protocollo INES, effetti tardivi del protocollo INES, protocollo di fase I-II GD2 long term infusion, ruolo della chirurgia nei pazienti con NB non resecabile.

L'UO di Oncologia interagisce con l'Unità di Biostatistica del neuroblastoma (UBN) per la gestione del Registro Italiano Neuroblastoma (RINB).

L'U.O. di Oncologia interagisce con i laboratori per garantire l'inquadramento biologico prognostico completo di ogni paziente affetto da NB e per lo sviluppo di nuove strategie terapeutiche, approfondire la caratterizzazione biologica e quella immunologica alla diagnosi e durante la terapia e sta collaborando con diversi laboratori su 2 progetti clinico-traslazionali: medicina di precisione(PREME) e microbioma(ANOMINE)

Personale e costi necessari alle attività del progetto

Staff	Qualifica	Tempo dedicato %	IGG o altri ENTI	FNB
Alberto Garaventa	Dirigente Medico	20	IGG	
Massimo Conte	Dirigente Medico	20	IGG	
Carla Manzitti	Dirigente Medico	20	IGG	
Loredana Amoroso	Dirigente Medico	30	IGG	
Stefania Sorrentino	Dirigente Medico	40	IGG	
Stefano Giardino	Dirigente Medico	20	IGG	
Barbara Galleni	Amministrativo	100		30.000 OPEN
Sonia Scaramuccia	Amministrativo	45		19000
Medico (Dott. ricerca su prog.NB)	Medico chirurgo	100	Univ.	35.000
SIOPEN tassa				3.000
Assicurazione			OPEN	30.000 OPEN

Unità di Biostatistica Neuroblastoma (Dott. Haupt)

Gestione del Registro Italiano Neuroblastoma. Centro dati per follow-up protocolli nazionali ed internazionali.

L'Unità di Biostatistica del neuroblastoma (UBN) risiede presso il Servizio di Epidemiologia, Biostatistica e Comitati dell'istituto G. Gaslini, coordinato dal Dr. Riccardo Haupt.

All'interno del progetto clinico NB l'UBN svolge 4 attività principali:

- 1) Gestione del Registro Italiano Neuroblastoma (RINB)
- 2) Coordinamento del protocollo internazionale NB-SCI per lo studio dei casi di neuroblastoma con invasione del canale spinale
- 3) Collaborazione per lo studio internazionale di follow-up a lungo termine dei pazienti INES (co-coordinatore dr. A. Garaventa)
- 4) Collaborazione con i ricercatori del progetto clinico all'analisi statistica su dati generati dal progetto stesso

Profili professionali del personale necessari:

N.1 Amministrativo esperto in database e N.1 Medico chirurgo

Personale e costi necessari alle attività del progetto

Staff	Qualifica	Tempo Dedicato %	IGG o altri ENTI	FNB
Riccardo Haupt	Dirigente Medico	35	IGG	
Angela Pistorio	Dirigente Medico	5	IGG	
Data manager	Amministrativo	60	IGG	
Contratto con CINECA			-	15.000
Canone CINECA			-	10.000

Unità di Anatomia Patologica (Dott.ssa Sementa)

L'Unità Operativa di Anatomia Patologica costituisce parte integrante del progetto. L'identificazione nosologica e la classificazione istopatologica dei tumori in esame sono la "conditio sine qua non" per l'istituzione di un registro e tutte le successive indagini, nonché della caratterizzazione quali-quantitativa dei tessuti tumorali avviati a indagini bio-molecolari, genetiche etc. Si ricorda in proposito che il 5% dei tumori centralizzati con diagnosi clinica di neuroblastoma risultano, di fatto, tumori non neuroblastici. L'U.O. di A.P. garantisce un'omogenea e aggiornata diagnosi istologica e definizione biologica della quasi totalità dei tumori neuroblastici periferici diagnosticati in Italia. Le attività che hanno sede presso la U.O.C. di Anatomia Patologica consentono di ottimizzare il materiale sempre più spesso esiguo proveniente dai centri AIEOP in modo da poter disporre al meglio dei campioni per le varie indagini richieste dai protocolli clinici-terapeutici. La caratterizzazione istopatologica e biomolecolare effettuata presso l'U.O.C. di A.P. consente dunque una miglior definizione prognostica, una maggiore personalizzazione del trattamento, anche individuando markers patogenetici e prognostici che sono potenziali obiettivi di farmaci biologici essenziali per lo sviluppo di nuove terapie.

L'U.O. di Anatomia Patologica provvede a:

- attività dell'ufficio logistico neuroblastoma ubicato presso la stessa U.O.C. di Anatomia Patologica, che movimentata e coordina il materiale in entrata proveniente dai vari centri AIEOP e i referti diagnostici in uscita verso gli stessi centri e il registro RINB
- tipizzazione e valutazione della composizione cellulare dei campioni;
- esecuzione delle indagini biomolecolari per la valutazione dell'amplificazione dell'oncogene MYCN, della delezione 1p36 e di 11q, del gain del 17q;
- studio dei tumori di pazienti segnalati come possibili beneficiari di terapia con farmaci inibitori di ALK mediante valutazione in FISH dell'amplificazione di ALK e immunistochemica con anticorpo anti-ALK,;
- inserimento dei dati biomolecolari dei pazienti italiani afferenti al protocollo LINES nel sito europeo SIOPEN-R-NET e valutazione dei casi europei per la convalida definitiva dei dati;
- gestione del settore tissutale della Biobanca Integrata Tessuto/Genomica (BIT-Gaslini), con costante aggiornamento di un database dedicato e distribuzione di materiale biologico a centri esterni, su apposita richiesta, previa approvazione del Comitato Scientifico della Biobanca.
- esame istologico seriato e con reazioni immunistochemiche ad hoc, delle biopsie osteo-midollari (BOMs);

Personale attualmente dedicato alle attività del progetto

Staff	Qualifica	Tempo dedicato %	IGG o altri ENTI	FNB
Angela Rita Sementa	Dirigente Medico	25	IGG	
Katia Mazzocco	Biologo	75	IGG	
Martina Verroca	Amministrativo	100	IGG	35.000 OPEN
Federico Comanducci	Tecnico di Laboratorio	10	IGG	
Davide Ircolò	Tecnico di Laboratorio	10	IGG	
Marco Ciufferi	Tecnico di Laboratorio	10	IGG	
Fabiana Malaguti	Tecnico di Laboratorio	10	IGG	
Daniela Campanella	Tecnico di Laboratorio	10	IGG	
Barbara De Giovanni	Tecnico di Laboratorio	10	IGG	
Manuela Ferraro	Tecnico di Laboratorio	10	IGG	

Unità di Biobanca genomica (Dott.ssa Eva)

la Biobanca BIT-Gaslini, effettua la preparazione, conservazione e manipolazione del materiale genomico, la valutazione molecolare “omica” del tessuto, l’aggiornamento della banca dati integrata con tutte le informazioni relative ai campioni tumorali, l’analisi bioinformatica dei dati e la refertazione delle caratteristiche molecolari di valore clinico prognostico.

La Biobanca svolge le seguenti mansioni:

1. Smistamento e distribuzione dei prelievi di sangue periferico e midollare ai laboratori riceventi;
2. Processamento dei prelievi di sangue periferico e midollare in plasma e pellet cellulare.
3. Purificazione di acidi nucleici da tessuti bioptici e da pellet cellulari, dosaggio e controllo qualità del materiale.
4. Estrazione del materiale genomico per eseguire le analisi biomolecolari richieste dai protocolli europei, la valutazione del DNA circolante. In particolare, in vista del nuovo protocollo alto rischio, la valutazione dell’oncogene ALK diventerà di importanza discriminante per l’arruolamento dei pazienti nel protocollo che prevede la somministrazione del Lorlatinib come farmaco di prima linea.
5. Implementazione e mantenimento del database associato alla Biobanca BIT-Gaslini per consentire le analisi integrate di risultati biologici e informazioni cliniche per l’identificazione di biomarcatori prognostici.
6. Distribuzione del materiale biologico o di dati conservati nella BIT-Gaslini a centri esterni, su apposita richiesta. Tale compito è volto a facilitare la ricerca scientifica e con l’integrazione dei risultati biologici e le caratteristiche cliniche per migliorare la cura del paziente.

L’attività della Biobanca BIT-Gaslini richiede un impegno quotidiano per gestire i campioni di neuroblastoma centralizzati presso l’Istituto. Il processamento e la conservazione dei campioni attuata per anni, ha consentito la creazione della più grande raccolta nazionale di campioni di neuroblastoma, che vengono messi a disposizione per la diagnosi e per la ricerca. Negli ultimi 5 anni vi è stato un incremento dei campioni raccolti, processati e conservati nella BIT-sezione genomica.

Il materiale raccolto, una volta valutato quantitativamente e qualitativamente, viene prima consegnato per eseguire esami diagnostici e prognostici, quindi messo a disposizione e distribuito per progetti di ricerca, previa autorizzazione del Comitato Scientifico. La distribuzione del materiale biologico comporta la restituzione dei risultati biomolecolari ottenuti alla Biobanca BIT-Gaslini, consentendo la possibilità di integrare i dati con quelli già registrati nella piattaforma informatica dedicata. Ad oggi 9606 campioni sono stati raccolti ed elaborati. Negli ultimi 5 anni le richieste di materiale alla BIT-Gaslini sono aumentate e diversi progetti hanno visto realizzazione grazie al materiale distribuito. Ad oggi 1603 campioni sono stati forniti per diversi progetti diagnostici o di ricerca.

Personale e costi necessari alle attività del progetto

Staff	Qualifica	Tempo dedicato %	Finanziamenti (€)	
			ALTRI ENTI	FNB
Morini Martina	Biologa	100	IGG	
Ardito Martina ¹	Biologa	100		22.000,00 OPEN
Cangelosi Davide	Informatico	20	IGG	
Zanardi Nicolò	Ing bioinformatico	20	IGG	
Scaramuccia Sonia	Amministrativo	45		19.000
Altre spese			10.000,00	

Il laboratorio di Biologia Molecolare ha bisogno di un biologo dedicato alla gestione del materiale della BIT-Gaslini, oggi identificabile con la Dott. Martina Ardito, borsista pagata dalla Fondazione Neuroblastoma. Le funzioni di Data Manager della Biobanca BIT sono e saranno di responsabilità e competenza della Dott. Martina Morini. La Dott. Sonia Scaramuccia si occupa della gestione amministrativa ed etica della BIT e delle relazioni con il BBMRI per quello che riguarda gli aggiornamenti dei regolamenti internazionali.

Unità di Biochimica Clinica (Dott.ssa Cangemi)

L'U.O.C. Laboratorio Centrale di Analisi, certificata ISO 9001:2015 ed accreditata da Joint Commission International, rappresenta da oltre 30 anni il laboratorio italiano di riferimento per la diagnostica biochimica del NB (Unità di Biochimica Clinica, UBC). L'UBC offre un supporto diagnostico e prognostico di fondamentale importanza per la gestione dei pazienti NB utilizzando elevati standard tecnologici (HPLC e LC-MS/MS) in applicazione di un sistema di qualità certificato anche mediante controlli di qualità internazionali (VEQ UK-NEQAS). L'UBC centralizza i campioni di urine, plasma e siero dei centri partecipanti al progetto clinico effettuando i test di laboratorio previsti dai vari protocolli (in particolare il dosaggio dei metaboliti urinari e plasmatici delle catecolamine nei vari tempi previsti dai protocolli clinici). I risultati prodotti vengono registrati sul sistema informatico del laboratorio, inviati ai centri e all'ufficio neuroblastoma e quindi integrati nel progetto "smart lab" e inseriti nel RINB.

L'UBC ha validato nuovi test per il dosaggio dei metaboliti urinari e plasmatici delle catecolamine mediante cromatografia liquida accoppiata alla spettrometria di massa tandem (LC-MS/MS), tecnica altamente sensibile e specifica per la quale ha sviluppato un notevole expertise. Questi nuovi test consentono di misurare un pannello di 8 metaboliti urinari da soli 500 µL di urina di una singola minzione e le metanefrine plasmatiche libere da soli 100 µL di plasma o siero con elevata precisione ed accuratezza. Un profilo biochimico completo consente di caratterizzare in maniera ottimale i pazienti sia per un migliore inquadramento diagnostico sia per il potenziale prognostico. L'UBC ha le potenzialità per centralizzare eventuali campioni provenienti da studi europei SIOPEN.

L'UBC è stata inoltre recentemente accreditata da AIFA per supportare gli studi clinici di fase I disponendo della metodologia e delle procedure certificate per effettuare i dosaggi dei farmaci per studi di farmacocinetica (PK).

Personale e costi necessari alle attività del progetto

Staff	Posizione	Tempo dedicato %	IGG o altri ENTI	FNB
Giuliana Cangemi	Dirigente Biologo	20	IGG	
Sebastiano Barco	Tecnico chimico ricercatore	50	IGG	
Laura Barbagallo	Tecnico Sanitario Laboratorio Biomedico	10	IGG	
Angelo Maffia	Tecnico Sanitario Laboratorio Biomedico	10	IGG	

Unita' Citomorfologia midollo osseo (Dott.ssa ML.Belli)

L'analisi morfologica del midollo osseo rappresenta un esame veloce ed economico indispensabile per la stadiazione e per indirizzare il successivo percorso di caratterizzazione di materiale patologico.

L'analisi per la diagnosi di Neuroblastoma comporta la valutazione al Microscopio Ottico dell'intero striscio di Midollo Osseo su vetrino opportunamente colorato con metodo May Grunwald - Giemsa.

Le sedi di prelievo del Midollo Osseo possono essere da 1 a 5, e per ogni sede vengono esaminati 3 vetrini (generalmente da 3 a 6 vetrini totali, più raramente 12 vetrini totali).

Le fasi valutate sono: esordio, tempi stabiliti dai protocolli terapeutici, eventuali recidive.

Tutti i vetrini esaminati vengono opportunamente contrassegnati e conservati (anche per eventuali Revisioni).

L'attività del Laboratorio di Citomorfologia dell'IGG è iniziata nel 1990 con 54 esordi provenienti dai vari Centri AIEOP e, negli ultimi 3 anni ha esaminato in media circa 300 campioni/anno.

Il Laboratorio negli ultimi tre anni ha partecipato ad uno studio multicentrico di sette paesi europei per la standardizzazione della valutazione cito-morfologica coordinato dal Professor Berthold.

A causa del pensionamento della Dott.ssa Scuderi, nonostante l'apporto della Dott.ssa Di Martino già impegnata nel Laboratorio di Ematologia, l'attività del laboratorio di Citomorfologia necessita di un biologo dedicato, almeno al 25%.

Personale e costi necessari alle attività del progetto

Staff	Posizione	Tempo dedicato %	IGG o altri ENTI	FNB
Belli Maria Luisa	Dir.Biologo	30	IGG	
Di Martino Daniela	Dir.Biologo	15	IGG	
Da individuare	Biologo	20	IGG	
Derosas Piera	Tec. Labor.Biomedico	25	IGG	

Unità Analisi del Profilo Genomico (Dott.F. Zara)

L'Unità studia il profilo genomico tumorale dei pazienti con NB, con particolare riferimento ai tumori di pazienti affetti da NB localizzato a basso rischio con età inferiore a 18 mesi. Per tali pazienti la determinazione del profilo genomico tumorale è essenziale ai fini delle decisioni terapeutiche: infatti i pazienti che presentano almeno 1 delle 8 anomalie cromosomiche strutturali ricorrenti (delezioni 1p, 3p, 4p, 6q, 11q, e duplicazioni 1q, 2p, 17q) (SCA) del NB vengono arruolati nel braccio del protocollo SIOPEN che prevede una terapia aggressiva, mentre i pazienti con NB che mostrano solo anomalie cromosomiche numeriche (NCA) vengono sottoposti a randomizzazione per trattamento/non trattamento. Lo studio del profilo genomico tumorale è stato esteso a tutti gli esordi di NB italiani, vengono analizzati circa 70 campioni di DNA tumorale per anno. L'analisi del profilo genomico tumorale secondo le linee guida sotto indicate consente di individuare nuove alterazioni cromosomiche che costituiscono spunti di ricerca innovativa; ad esempio, abbiamo individuato un paziente con una microdelezione costituzionale del 3p coinvolgente una regione cromosomica contenente solo 3 geni, uno dei quali potrebbe essere un nuovo gene oncosoppressore per il NB. L'attività dell'Unità Analisi del Profilo Genomico è integrata con la BIT-IGG-neuroblastoma poiché tutti i risultati ottenuti vengono inseriti nel database della biobanca stessa.

L'Unità si propone anche di sviluppare lo screening di pazienti HR-NB mediante la tecnologia di Next Generation Sequencing (NGS) per l'identificazione di mutazioni germinali e somatiche associate allo sviluppo e alla aggressività del Neuroblastoma utilizzando pannelli commerciali che sequenziano più di 400 geni coinvolti nel processo tumorale in un singolo test. Data l'alta sensibilità e specificità della tecnologia NGS, lo screening con questo tipo di pannello potrebbe essere applicata anche per il profilo molecolare di altri tumori pediatrici.

Personale e costi necessari alle attività del progetto

Staff	Qualifica	Tempo dedicato %	Finanziamenti (€)	
			ALTRI ENTI	FNB
Federico Zara	Biologo	10	IGG	
Marzia Ognibene	Biologa	75	IGG	
Patrizia DeMarco	Biologa	30	IGG	

Unità Molecolare Malattia Circolante (Dott.ssa Corrias)

Analisi della malattia circolante in accordo alle analisi individuate nei protocolli SIOOPEN.

Nei pazienti con NB la presenza/assenza di malattia midollare è centrale per l'inquadramento clinico, la stadiazione, la terapia e la prognosi. Le analisi standard sono la citologia dello striscio midollare e la istologia delle biopsie ossee. Negli ultimi 10 anni si sono affiancate metodiche più sensibili, tra cui la RT-qPCR, la immunocitologia e l'analisi di DNA e/o RNA liberi nel plasma. Tutte queste metodologie sono attualmente effettuate da persone diverse e in laboratori diversi, con conseguente spreco di materiale del paziente.

Attualmente le persone responsabili delle varie analisi sono vicine alla pensione e molte di loro non hanno dei giovani già istruiti e competenti che possano succedergli. Come responsabile del laboratorio di riferimento nazionale per la RT-qPCR, vice-chair dal 2007 del Molecular Monitoring Group SIOOPEN, e da quest'anno membro del Biology Steering Committee on Circulating Biomarker della SIOOPEN, che sovrintende gli studi biologici e individua nuovi fattori prognostici non ho nessuno a cui passare il testimone.

Sarebbe quindi necessario utilizzare i 3-4 anni che mi separano dalla pensione per formare un/una giovane biologo/a che possa continuare lo studio della malattia circolante. Date le premesse e dato che i casi di NB sono limitati, ritengo che sarebbe ottimale se la stessa persona potesse imparare tutte le metodiche che devono essere applicate nei nuovi protocolli. Questo avrebbe un duplice vantaggio, da una parte una ottimizzazione della resa del materiale del paziente e dall'altra il/la giovane biologo/a potrebbe ampliare le proprie capacità tecniche e avere un quadro generale della malattia circolante e quindi raggiungere più velocemente una conoscenza approfondita.

Il midollo (e il sangue periferico) verrebbe processato per fare RT-qPCR, immunocitologia, analisi di DNA e RNA circolanti e in parte archiviato nelle biobanche NB (integrata e plasmatica). E' evidente che il/la giovane biologo/a riceverà istruzioni per ciascuna procedura utilizzando formatori del Gaslini o in seguito a stage in laboratori SIOOPEN, mentre l'archiviazione e gestione del materiale archiviato resterà compito dei responsabili delle biobanche.

Personale e costi necessari alle attività del progetto

Staff	Qualifica	Tempo dedicato %	Finanziamenti (€)	
			ALTRI ENTI	FNB
Maria Valeria Corrias	Biologa	100	IGG	
Da arruolare *	Biologa	100	22.000,00	

* Un contratto triennale per biologo/biotecnologo iscritto a scuola di specializzazione in patologia e biochimica clinica (per rendere sicuro un suo inserimento nel SSN e quindi assicurarsi un proseguo dopo i tre anni di formazione).

Unità di studi immunologici: Prof. sse R. Castriconi (Univ. Di Genova) e C. Bottino (IGG e Univ. di Genova)

L'Unità si occupa di isolare e caratterizzare le cellule mononucleate del sangue periferico di pazienti affetti da neuroblastoma all'esordio, alla recidiva, durante immunoterapia e follow up post terapia, indipendentemente dallo stadio di malattia. Tale attività, focalizzata soprattutto sulla caratterizzazione delle cellule Natural Killer (NK), mira allo sviluppo di protocolli di immunoterapia e comprende studi di citofluorimetria (analisi di specifici marcatori di superficie o intracellulari), studi funzionali in vitro (analisi di proliferazione e citotossicità) e immunomonitoring in pazienti arruolati in protocolli di immunoterapia.

Per quanto riguarda il possibile orientamento verso il trapianto aploidentico nei pazienti refrattari o recidivati, l'attività dell'unità prevede la caratterizzazione fenotipico/funzionale/molecolare anche delle cellule NK dei genitori e fratelli del paziente al fine di selezionare il donatore ottimale di cellule staminali emopoietiche. Inoltre, l'unità integrerà i dati forniti dall'unità di citomorfologia (Dott.sa Belli), svolgendo analisi citofluorimetriche volte alla caratterizzazione immunofenotipica della malattia midollare, in particolare fornendo dati di espressione di immune checkpoints e target immunoterapeutici in uso (GD2) e innovativi quali il B7-H3.

L'unità si propone di approfondire gli studi già in corso sulla presenza e le funzioni di sottopopolazioni linfocitarie del sangue periferico ad attività citotossica e sulla loro caratterizzazione delle molecole in grado di modularne l'attività antitumorale. Tale studio potrà essere esteso alle popolazioni linfocitarie dei familiari del paziente nella prospettiva di protocolli immunoterapeutici post trapianto aploidentico. La caratterizzazione immunofenotipica della malattia midollare potrà consentire di stabilire nuovi parametri di risposta all'attuale immunoterapia, quali il cut-off di espressione della molecola target GD2.

Personale e costi necessari alle attività del progetto

Staff	Qualifica	Tempo dedicato %	Finanziamenti (€)/anno	
			ALTRI ENTI	FNB
Alessandra Dondero	Biologo	45	Università	
Michela Falco	Biologa	15	IGG	
Roberta Castriconi	Biologo	30	Università	
Cristina Bottino	Medico	10	Università/IGG	
Da arruolare	Tecnico laureato	100	18000	
Altre spese			10000	

Budget di minima Galleni 30000,Verroca 35000,Ardito 22000Assicurazione protocollo HR 23000