



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI CATANIA

Area dei Rapporti Istituzionali e con il Territorio

Catania, 28/12/2012

Prot. n. 124908

All. n. 1

N.B. Nella risposta  
vanno citati il numero  
di protocollo della presente  
e l'Area di provenienza

Al Dirigente dell'Area finanziaria

Al Dirigente dell'Area della pianificazione e del  
controllo di gestione

Al Dirigente dell'Area della ricerca

e, p.c.

Al Direttore del dipartimento di Biomedicina  
clinica e molecolare

Al Prof. Francesco Di Raimondo  
Responsabile scientifico

Al Direttore responsabile del Bollettino  
d'Ateneo

Al Direttore generale

**Oggetto: Accordo con Azienda Celgene.**

Per opportuna conoscenza e per eventuali provvedimenti consequenziali, si trasmette una copia dell'accordo in oggetto per l'erogazione di un contributo allo svolgimento del progetto denominato "*Evaluation of prosurvival pathways, included autophagy, in high-risk Myelodysplastic Syndromes bone marrow after treatment with 5-azacitidine to restore normal hematopoiesis*", debitamente firmato da entrambe le parti.

L'occasione è gradita per porgere distinti saluti.

Il dirigente  
(avv. Rosanna Branciforte)

V.M.



**Accordo per il supporto finanziario di attività scientifiche e di ricerca rif. 29837**

Questo accordo relativo al supporto finanziario delle attività scientifiche e di ricerca (il "Contratto") è stipulato a partire dal Settembre 2012 (la "Data di Inizio") da e tra

Celgene International Sàrl, una società regolarmente costituita secondo le leggi della Svizzera, con sede in Route de Perreux 1, 2017 Boudry, Svizzera (di seguito denominata "Celgene") (insieme alle sue affiliate, come di seguito definite, di seguito collettivamente denominato "Gruppo Celgene")

E

Università degli Studi di Catania, Dipartimento di Biomedicina Clinica e Molecolare, con sede legale in p.zza Università 2, Catania (Italia) (di seguito denominato "Istituzione"), rappresentato dal rettore pro-tempore, prof. Antonino Recca

qui di seguito complessivamente denominati le "Parti".

Al fini del presente accordo, per "Affiliate" si intende qualsiasi impresa o altra identità direttamente o indirettamente controllanti, controllate da o sottoposte a comune controllo con una delle parti del presente accordo; con questa definizione "controllo" si intende il potere di, direttamente o indirettamente, nominare la maggioranza degli amministratori, indirizzare diversamente o determinare la direzione della gestione o le politiche di tale società o altra entità, attraverso la quota di proprietà, tramite il contratto o altro.

**PREMESSA**

Il 20 Luglio, il Prof. Di Raimondo (di seguito denominato lo Sperimentatore) e l'Istituzione hanno stipulato un accordo con Celgene Corporation (di seguito indicato come "Contratto Istituzionale di fornitura di materiale" o "MTA"), per ottenere alcune sostanze chimiche e / o composti biologici, reagenti, linee cellulari e / o altri materiali di proprietà scoperti, sviluppati, brevettati, di proprietà e / o controllati dal Gruppo Celgene ("MATERIALI Celgene") al fine di effettuare, presso l'Istituto, un progetto di ricerca dal titolo "an evaluation of pro-survival pathways, included autophagy, in high-risk Myelodysplastic Syndromes bone marrow after treatment with 5-azacitidine to restore normal hematopoiesis "con SOSTANZE Celgene (" studi di ricerca "), in seguito anche denominato "Progetto";

Il Prof. Di Raimondo ha chiesto a Celgene di sostenere finanziariamente il progetto, la cui descrizione è riportata nell'Allegato 1 che segue Celgene è disposta a fornire un supporto

finanziario all'Istituzione che sarà utilizzato in conformità con i termini del presente accordo ad al solo scopo di condurre il progetto;

le parti intendono quindi sottoscrivere il presente accordo per definire i termini e le condizioni del supporto finanziario fornito da Celgene al progetto;

**Pertanto, e in considerazione di quanto in precedenza, le Parti convengono quanto segue:**

### **1. Disposizioni Generali**

Un supporto finanziario di (€ 35.000) trentacinquesima euro (il "Grant") sarà fornito da Celgene come contributo volontario al progetto dopo la firma del presente accordo da entrambe le parti. Il pagamento del Grant sarà elargito in 2 tranches di pari valore, una alla firma del presente accordo, nonché una al momento della consegna del rapporto di ricerca nel 2013.

Le parti riconoscono e concordano che il supporto si basa sulla proposta di budget dell'Istituzione che riflette la stima, in buona fede, dei costi diretti del progetto. L'Istituzione dovrà utilizzare il supporto fornito da Celgene esclusivamente per il progetto stesso nei tempi concordati, definiti in seguito, e nel rispetto dei termini e delle condizioni qui di seguito specificati. L'Istituzione permetterà a Celgene di verificare le registrazioni di spesa relative al progetto, di volta in volta su richiesta di Celgene.

L'Istituzione tramite lo sperimentatore aggiornerà Esther Carrasco, Associate Manager Medical Affairs di Celgene : [EUJIT@celgene.com](mailto:EUJIT@celgene.com), e Paola Zanon, Direttore Medico di Celgene Italia: [pzanon@celgene.com](mailto:pzanon@celgene.com), tramite, reports periodici sullo status del progetto ed i suoi risultati finali, al fine di confermare che le tempistiche e gli obiettivi del Progetto vengano raggiunti.

A conclusione del Progetto, Istituzione dovrà conciliare il Grant specificando come i fondi siano stati spesi, al fine di garantire che i costi effettivi siano allineati con le previsioni di budget iniziali. Se l'importo dei fondi non utilizzati risulterà superiore a € 100, tali fondi non utilizzati, dovranno essere restituiti Celgene.

La responsabilità finanziaria di Celgene è limitata all'ammontare del Grant stabilito nel presente accordo.

### **2. Durata del progetto**

Data prevista di inizio: 1 Settembre 2012

Data prevista di fine: 30 Settembre 2014

### **3. Condizioni di pagamento**

I pagamenti saranno effettuati, dopo ricevimento di una richiesta di pagamento, sul seguente conto:

Nome della Banca: Banca Monte Dei Paschi Di Siena Spa AG 6 CATANIA  
Numero del conto: 000000102536  
ABI: 01030  
CAB: 16907  
CIN: 0  
IT: 23  
IBAN: 000000102536 01030 16907 0 23

Riferimento da indicare Evaluation of pro-survival pathways, included autophagy, in high-risk Myelodysplastic Syndromes bone marrow after treatment with 5-azacitidine to restore normal hematopoiesis

Le richieste di pagamento, intestate /fatture, dovranno essere scannerizzate (pdf) ed inviate al Dipartimento Finanziario di Celgene (Celgene.international.sarl.celgene.com) con copia a Valérie Pierard del Dipartimento di Medical Affairs (vpierard@celgene.com).

Nel caso in cui il pagamento dell'imposta sul valore aggiunto (IVA) dovrà essere dedotto dall'istituzione, l'attuale percentuale di IVA potrà essere aggiunta alle fatture dell'istituzione. L'importo dovrà essere indicato separatamente in fattura.

#### 4. Garanzie

Ciascuna parte dichiara che le disposizioni, di cui al presente accordo, sono state esaminate e approvate da ciascuna delle parti secondo le rispettive e appropriate procedure interne di approvazione.

Il grant, ai sensi del presente accordo, verrà fornito all'Istituzione sulla base dei meriti scientifici dell'attività di ricerca clinica ed è conforme alla concezione aziendale, regolatoria e alle procedure di Celgene, in merito al supporto per attività di ricerca.

Il grant, ai sensi del presente accordo, viene fornito interamente, senza obbligo di utilizzare o consigliare i prodotti del gruppo Celgene e non è condizionato in alcun modo da eventuali rapporti commerciali pre-esistenti o futuri tra l'Istituzione e il Gruppo Celgene, o da qualsiasi attività commerciale o da altre decisioni che l'Istituzione ha preso o potrebbe prendere in futuro riguardante Celgene o il Gruppo Celgene.

L'Istituzione è pienamente ed esclusivamente responsabile del progetto e gestirà lo stesso in modo indipendente, in conformità ai requisiti stabiliti in tutte le disposizioni di legge applicabili e alle altre disposizioni legali, compresi ma non limitati i termini relativi alla proprietà dei risultati del progetto e alla rispettiva proprietà intellettuale, nonché alla pubblicazione dei risultati del Progetto.

#### 5. Informazioni confidenziali delle parti

L'Istituzione e Celgene potranno divulgare le informazioni considerate riservate ad altri, in base ai termini del presente accordo. Ogni informazione ricevuta dall'altra parte, contrassegnata come "confidenziale" al momento della comunicazione, è da considerarsi "informazioni riservata" della parte rivelante. La parte ricevente non farà uso di nessuna delle informazioni confidenziali

appartenenti all'altra parte, tranne che per adempiere ai suoi obblighi e agli impegni ai sensi del presente accordo.

L'Istituzione e Celgene garantiscono il trattamento, la diffusione e la comunicazione dei dati personali relativi al presente accordo per i loro scopi istituzionali nel rispetto delle leggi vigenti e alle disposizioni del presente accordo.

E' riconosciuto e concordato tra le parti che l'eventuale uso di materiali biologici e / o il trattamento di dati sensibili e / o genetici dei pazienti avverrà sotto la sola responsabilità dell'Istituzione e in conformità con la legislazione in vigore in merito alla protezione dei dati personali, compreso ma non limitato alle norme e ai regolamenti applicabili all'acquisizione del consenso informato scritto, al trattamento, alla comunicazione e alla protezione dei dati sensibili nel quadro delle attività di ricerca scientifica.

## **6. Risoluzione**

Ciascuna delle parti ha il diritto di risolvere il presente Contratto qualora l'altra parte commetta una violazione degli obblighi previsti dal presente accordo o dovesse fallire o non dovesse essere in grado di porre rimedio a tale violazione entro 30 (trenta) giorni dal ricevimento della comunicazione scritta che indichi la violazione .

Le parti riconoscono e concordano che il presente contratto è risolto di diritto in caso di scioglimento anticipato del MTA per motivi di qualsiasi altra cosa.

L'esercizio della possibilità di recesso non esonera la parte inadempiente dall' adempiere ai propri obblighi contrattuali fino alla data di cancellazione effettiva del presente accordo.

Qualsiasi risoluzione del presente accordo non pregiudica i diritti e gli obblighi delle parti già stabiliti in precedenza.

## **7. Segnalazione Eventi Avversi**

Se il progetto prevede la somministrazione di prodotti Celgene, l'Istituzione si impegna inoltre a seguire le disposizioni inerenti gli eventi avversi, come dettagliato nella Sezione 9.

## **7. Leggi applicabili e giurisdizione**

Il presente accordo è costituito sulla base delle leggi della Svizzera senza esclusione di ogni altra scelta di legge o dei principi di sede.

Qualsiasi controversia relativa all'esecuzione ed interpretazione del presente accordo, Sono di competenza del foro di Catania.

## **8. Varie**

Tutti i diritti e gli obblighi di cui al presente contratto non dovranno essere ceduti a terzi.

Qualora un articolo del presente Contratto non sia valido o inapplicabile o se il contratto contenesse un'omissione, le restanti disposizioni sono da considerarsi valide. Al posto di una disposizione non valida, si presume che tra le parti si sia concordata una disposizione valida, che più si avvicini a quanto effettivamente pattuito; lo stesso si applica in caso di omissione. Questo testo contiene l'intero accordo tra le parti per quanto riguarda il supporto finanziario fornito da Celgene per il progetto, eventuali modifiche dell'accordo dovranno essere presentate per iscritto, compresa la modifica di tale disposizione.

## 9. Segnalazione Eventi Avversi

Se il progetto prevede la somministrazione di prodotti Celgene, l'Istituzione si impegna inoltre a seguire le seguenti disposizioni.

### EVENTI AVVERSI

#### 9.1. Monitoraggio, registrazione e segnalazione degli eventi avversi (AE) e delle reazioni avverse da farmaco (ADR)

##### Definizioni

*Evento avverso (Adverse Event - AE):* Qualsiasi evenienza sfavorevole di natura medica che si verifica in un paziente in seguito alla somministrazione di un prodotto farmaceutico e che pertanto non presenta necessariamente una correlazione di causa-effetto con il trattamento stesso, ovvero qualsiasi segno, sintomo o malattia sfavorevole e non previsto associato all'impiego del prodotto medicinale per coincidenza temporale, sia essa correlata o meno al prodotto medicinale.

*Reazione avversa da farmaco (Adverse Drug Reaction - ADR):* Una risposta a un farmaco nociva e non prevista, per cui si sospetta una correlazione di causa-effetto tra il farmaco e l'insorgenza della reazione.

*Evento avverso serio (Serious Adverse Event - SAE):* Qualsiasi evento clinico inaspettato che si verifica a prescindere dalla dose e che ha esito nella morte, mette in pericolo la vita del paziente, richiede un ricovero ospedaliero o suo prolungamento, determina invalidità/inabilità prolungata o significativa, comporta una anomalia congenita/un difetto alla nascita oppure costituisce un evento clinico importante.

*Reazione avversa seria da farmaco (Serious Adverse Drug Reaction - SADR):* Una risposta non prevista a un prodotto medicinale che ha esito nella morte, mette in pericolo la vita del paziente, richiede un ricovero ospedaliero o suo prolungamento, determina invalidità/inabilità prolungata o significativa oppure comporta una anomalia congenita/un difetto alla nascita, di cui si sospetta una correlazione di causa-effetto tra il farmaco e l'insorgenza della reazione.

Tutti i pazienti saranno monitorati per rilevare l'eventuale insorgenza di AE nel corso della sperimentazione. Le valutazioni possono includere il monitoraggio di uno qualsiasi o tutti i seguenti parametri in base alla pratica clinica standard: i sintomi clinici del paziente, i risultati dei test di laboratorio, patologici, radiologici o chirurgici, i risultati dell'esame obiettivo o altri test e procedure appropriati.

I medici dovranno inoltre segnalare quanto segue:

- impiego del farmaco durante la gravidanza (vedere anche la sezione **Error! Reference source not found.**)
- eventuali reazioni avverse che insorgono durante l'allattamento
- impiego del farmaco in pazienti pediatriche
- mancanza di efficacia
- sospetta trasmissione di agenti infettivi
- sovradosaggio, abuso e uso improprio del farmaco
- errori terapeutici

Qualora fosse necessario emendare i requisiti riguardanti la segnalazione degli eventi avversi in caso di un'emergenza sanitaria pubblica, questi ultimi saranno comunicati ai medici dal Titolare dell'Autorizzazione all'immissione in commercio (Celgene).

Tutti gli AE saranno registrati dal medico a partire dal momento in cui il paziente sottoscrive il Consenso informato raccomandato fino ad almeno 28 giorni dopo la somministrazione dell'ultima dose di Vidaza. Gli AE e i SAE saranno trascritti nell'apposita pagina dedicata agli AE della Scheda raccolta dati (*Case Report Form – CRF*) e nei documenti originali del paziente. Tutti i SAE dovranno essere segnalati alla divisione Drug Safety di Celgene via fax, utilizzando la Scheda di segnalazione degli eventi avversi o un modulo equivalente approvato, entro 24 ore dal momento in cui il medico è venuto a conoscenza dell'evento. Tutte le ADR non serie devono essere registrate nella CRF.

## 9.2. Valutazione degli eventi avversi

Un medico qualificato valuterà tutti gli eventi avversi in relazione ai seguenti punti:

### Gravità

Un evento avverso serio (SAE) è un qualsiasi AE che insorge a qualsiasi dose e che:

- ha esito nella morte;
- mette in pericolo la vita del paziente (a giudizio del medico, il paziente è a rischio immediato di morte quale conseguenza dell'AE);
- richiede il ricovero ospedaliero o suo prolungamento (il ricovero ospedaliero è definito come l'accettazione del paziente in ospedale, a prescindere dalla durata della degenza);
- determina invalidità/inabilità prolungata o significativa (concreta interruzione della capacità di svolgere normali funzioni vitali);
- comporta una anomalia congenita e/o un difetto alla nascita;
- costituisce un evento clinico importante.

Gli eventi clinici importanti sono definiti come eventi che non pongono il paziente in immediato rischio di morte o non causano la morte, non richiedono il ricovero in ospedale o non comportano disabilità, ma possono compromettere le condizioni del paziente oppure richiedere un intervento

medico o chirurgico al fine di prevenire una delle conseguenze elencate sopra. In base al giudizio medico e scientifico, si deve stabilire se un AE di questo tipo deve essere considerato serio.

#### **Correlazione di causa-effetto**

Il medico deve stabilire se la correlazione tra la somministrazione del farmaco e l'insorgenza di un AE/SAE è Non sospetta oppure Sospetta, come qui di seguito definito:

**Non sospetta:** La coincidenza temporale tra l'evento avverso e la somministrazione del farmaco rende la correlazione causale **improbabile o remota**, oppure altri farmaci, interventi terapeutici o malattie di base sono sufficienti a spiegare l'insorgenza dell'evento osservato.

**Sospetta:** La coincidenza temporale tra l'evento avverso e la somministrazione del farmaco rende la correlazione causale **possibile** e altri farmaci, interventi terapeutici o malattie di base non sono sufficienti a spiegare l'insorgenza dell'evento osservato.

Se si sospetta che un evento sia correlato ad un farmaco non prodotto o non fornito da Celgene, sarà necessario indicare il nome del produttore quando si segnala l'evento.

#### **Durata**

Per gli AE e i SAE, il medico fornirà un'indicazione delle date di inizio e fine dell'evento.

#### **Misure attuate**

Il medico riferirà le misure adottate in associazione al farmaco in studio in seguito alla comparsa di un AE o SAE (es. Interruzione del trattamento o riduzione della dose del farmaco in studio, a seconda del caso) e indicherà gli eventuali trattamenti concomitanti e/o aggiuntivi somministrati per l'evento.

#### **Esito**

Il medico riferirà l'esito dell'evento per gli AE e i SAE.

Tutti i SAE, che non si sono risolti all'interruzione della partecipazione del paziente allo studio, devono essere monitorati fino a guarigione, alla guarigione con sequele, alla mancata guarigione (decesso dovuto a un'altra causa) o alla morte (in seguito alla comparsa del SAE).

#### **Gravidanza**

La paziente deve consultare una ostetrica/ginecologo o un altro operatore sanitario competente per sottoporsi a un'ulteriore valutazione.

Il medico monitorerà la paziente fino al completamento del periodo di gestazione e dovrà comunicare immediatamente l'esito della gravidanza (esito normale o anormale) alla divisione Drug Safety di Celgene, utilizzando la Scheda di segnalazione degli eventi avversi.

In caso di esito anormale della gravidanza (es. aborto spontaneo o terapeutico), il medico dovrà segnalare tale esito come un AE. Se l'esito anormale soddisfa uno qualsiasi dei criteri relativi alla



gravità, dovrà essere segnalato come SAE alla divisione Drug Safety di Celgene via fax o con altro mezzo, utilizzando la Scheda di segnalazione degli eventi avversi, entro 24 ore dal momento in cui il medico è venuto a conoscenza dell'esito.

Tutti i decessi di neonati, che avvengono entro 28 giorni dalla nascita, dovranno essere segnalati come SAE, a prescindere dalla correlazione di causa-effetto. Inoltre, anche il decesso di neonati avvenuto dopo 28 giorni e che il medico sospetta essere correlato all'esposizione a Vidaza nell'utero, dovrà essere comunicato alla divisione Drug Safety di Celgene via fax o con altro mezzo, utilizzando la Scheda di segnalazione degli eventi avversi, entro 24 ore dal momento in cui il medico è venuto a conoscenza dell'evento.

#### **Partner di sesso femminile di pazienti di sesso maschile**

Se una partner di un paziente di sesso maschile, che assume il farmaco in studio, incorre in una gravidanza, il paziente sottoposto a trattamento con Vidaza dovrà immediatamente informare il medico di tale evento e la partner dovrà contattare immediatamente un operatore sanitario.

### **9.3 Segnalazione degli eventi avversi seri e delle reazioni avverse non serie da farmaco**

#### **Eventi avversi seri**

Qualsiasi AE che soddisfa un qualsiasi criterio stabilito per un SAE (vedere le sezioni **Error Reference source not found**, e **Error Reference source not found**.) richiede la compilazione di una Scheda di segnalazione degli eventi avversi, oltre alla registrazione nell'apposita pagina/schermata dedicata agli AE della CRF. Tutti i SAE, compresi i casi segnalati di gravidanza e gli eventi di interesse, dovranno essere riferiti alla divisione Drug Safety di Celgene via fax o con altro mezzo, utilizzando la Scheda di segnalazione degli eventi avversi, entro 24 ore dal momento in cui il medico è venuto a conoscenza dell'evento. Questa indicazione riguarderà le segnalazioni di SAE iniziali ed eventuali segnalazioni durante il *follow-up*.

Il medico dovrà accertarsi che i dati riportati nei moduli siano corretti e coerenti. Questa condizione vale per tutti i SAE (a prescindere dalla correlazione con il farmaco in studio), che insorgono nel corso della sperimentazione a partire dalla sottoscrizione del Consenso informato fino ad almeno 28 giorni dopo la somministrazione dell'ultima dose di Vidaza e per quelli di cui il medico viene a conoscenza in qualsiasi momento successivo e che siano presumibilmente correlati all'impiego di Vidaza.

Il medico dovrà fornire informazioni compilando tutte le sezioni pertinenti della Scheda di segnalazione degli eventi avversi, senza allegare eccessiva documentazione di supporto. Eventuali dati di *follow-up* dovranno essere descritti dettagliatamente in una successiva Scheda di segnalazione degli eventi avversi e dovranno essere trasmessi alla divisione Drug Safety di Celgene.

Tutti i SAE (compresi i secondi tumori primari), che non si siano risolti all'interruzione della partecipazione del paziente allo studio, dovranno essere monitorati fino a guarigione, alla guarigione con sequele, alla mancata guarigione (decesso dovuto a un'altra causa) o alla morte (in seguito alla comparsa del SAE).

Dato che si tratta di uno studio non interventistico, lo sperimentatore dovrà segnalare

qualsiasi reazione avversa seria e non seria all'Autorità sanitaria territoriale competente (ai sensi della legge italiana – specificatamente in conformità al Decreto Legge n. 219 del 24 aprile 2006), trasmettendo una copia compilata del modulo italiano ufficiale "Scheda Unica di Segnalazione di Sospetta Reazione Avversa" o inserendo le informazioni corrispondenti nel "Registro dei Farmaci Oncologici sottoposti a Monitoraggio".

Se una "Scheda Unica di Segnalazione di Sospetta Reazione Avversa", in cui [nome del farmaco di Celgene] è indicato come "farmaco sospetto", viene compilata e trasmessa all'Autorità sanitaria territoriale competente, una copia dovrà essere successivamente inoltrata via fax alla divisione Drug Safety di Celgene S.r.l.; se invece i casi sono stati segnalati tramite il "Registro dei Farmaci Oncologici sottoposti a Monitoraggio", un tabulato contenente le informazioni riguardanti le reazioni avverse dovrà essere inviato via fax alla divisione Drug Safety di Celgene S.r.l.. In entrambi i casi, i fax dovranno essere trasmessi entro 24 ore dal momento in cui il medico è venuto a conoscenza dell'evento per la prima volta, indicando nella lettera di accompagnamento che il caso segnalato fa parte di questo studio.

Nel caso in cui non sia richiesta alcuna comunicazione alle Autorità sanitarie territoriali competenti (ovvero se UNO QUALSIASI degli eventi avversi insorti nel paziente è stato considerato non correlato all'impiego di [nome del farmaco di Celgene]), ma almeno uno degli eventi è stato valutato come serio, lo sperimentatore dovrà compilare e trasmettere via fax una copia della Scheda di segnalazione degli eventi avversi alla divisione Drug Safety di Celgene S.r.l., entro 24 ore dal momento in cui è venuto per la prima volta a conoscenza dell'evento.

#### **Reazioni avverse non serie da farmaco**

Anche tutte le reazioni avverse non serie da farmaco devono essere registrate nell'apposita pagina dedicata agli AE della CRF.

#### **9.4 Segnalazione d'urgenza degli eventi avversi**

Il Centro Interdipartimentale di Ricerche sul Cancro "G. Prodi" riferirà alle Autorità regolatorie e ai Comitati etici in base alle modalità previste dalle linee guida dell'AIFA del 31/03/2008.

#### **Informazioni per contattare la divisione Drug Safety di Celgene:**

Unità di Farmacovigilanza

Tel: +39 02 91434340

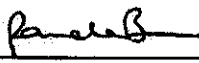
Fax: +39 02 63471119

e-mail: [drugsafety-italy@celgene.com](mailto:drugsafety-italy@celgene.com)

IN FEDE, i sottoscritti sono debitamente autorizzati a firmare l'accordo in nome delle parti.

**Celgene International Sari**

**Universita Degli Studi Di Catania-  
Dipartimento di Biomedicina Clinica e Molecolare**

Firma 

**IL RETTORE**  
**Prof. A. RECCA**  
Firma 

Nome Pamela Bacon  
Senior Director Medical Affairs

Nome \_\_\_\_\_

Titolo \_\_\_\_\_

Titolo \_\_\_\_\_

Data 12/12/12

Data 3 DIC



## TITLE

Evaluation of pro-survival pathways, included autophagy, in high-risk MDS bone marrow after treatment with 5-azacitidine to restore normal hematopoiesis

Principal Investigator: Prof. Francesco Di Raimondo, University of Catania

Secondary Investigator: Dr. Alessandra Romano, University of Catania

## BACKGROUND

Myelodysplastic Syndromes (MDS) are characterised by an uncoupling of proliferation and differentiation at the level of the hemopoietic stem cell. Approximately one-third of patients progresses to acute myeloid leukemia. Several studies have shown increased rates of programmed cell death (apoptosis) in marrow cells of patients with low grade/early stage MDS, leading to the hypothesis that a balance of pro-apoptotic and anti-apoptotic signals is central to disease progression. Induction of differentiation in culture diminishes the ability of leukemic stem cells to self-generate in vitro and reduces in vivo leukemogenicity in murine models.

5-azacytidine (5-AZA) is a DNA methyltransferase inhibitor used in treatment of high-risk MDS, achieving improved clinical outcomes and quality of life when compared to supportive care. The molecular basis for this outcome is unclear and the exact gene targets have not been identified yet. Potential target genes include those of p53 family, affecting cell differentiation and apoptosis, or the p21 and p18 affecting the behaviour of stem cells. It is also unknown whether the drugs exert their effect by restoring gene expression and blast differentiation or by induction of apoptosis.

## PRELIMINARY RESULTS

Our previous work (Calgene funded research project, M-190), showed differential protein expression in MDS patients treated with 5-aza [1,2,3, 4]. Studying 45 endpoints with RPMA investigating technology, a group of proteins linked within the same signalling pathway were found to be elevated after the treatment with 5-azacytidine, and it was independent of achieved response.

Comparing the pool of samples at diagnosis with the pool of samples after 4 cycles we found an increase of the main proteins with the autophagy pathway: ATG5 ( $p < 0.0001$ ), Beclin 1 ( $p = 0.0056$ ) and LC3B ( $p = 0.0124$ ). Activation of the autophagy pathway occurred downstream of mTOR, since mTORSer2448, AktSer473, AktThr308, ERKThr202Tyr204 were not affected. Similarly, PLC- $\gamma$ -1-Tyr783, and its upstream SrcTyr416, Shc, Ezrin Tyr353, and downstream target STAT5Tyr694 ( $p = 0.0017$ ), Msi, Numb, Notch-1 were increased, without affecting proliferative pathways, such as AKT activation status on Ser473 and Thr308, mTORSer2448, ErkThr202Tyr204. Thus, we concluded that a pro-survival pathway was activated by exposure to azacitidine, but new questions needed to be addressed:

1. Can these prosurvival pathways be responsible of azacitidine failure after long term exposure?
2. Does the pro-survival pathway occur at the same manner among the different progenitors present in the bone marrow? Are there some cells more sensitive to these changes?
3. Is the increased expression of Msi, Notch-1 and Numb dependent on the methylation status of their promoters or their protein controllers (in particular Hox-A5 and Hox-A9 for Msi)? And if not, the difference in clinical outcome between azacitidine and decitabine can be addressed in their different ability to modulate the expression of these proteins?

## OBJECTIVES

1. Detection of changes in cell cycle after exposure in vitro to azacitidine in primary MDS-cells and human cell line
2. Detection of autophagy compensatory pathways in MDS-patients derived colonies
3. Detection of synergic effect of autophagy inhibitors (e.g. chloroquine) combined to azacitidine

4. Detection of Msi-induced compensatory pathways in MDS-patients derived colonies

#### EXPERIMENTAL PLAN

Sample size: 15 patients, before and after treatment, 3 human cell lines

#### LOCATION OF RESEARCH COMPONENTS

##### SAMPLE COLLECTION, FLOW CYTOMETRY, MOLECULAR BIOLOGY, COLONY FORMING ASSAY

Division of Hematology, University of Catania at Ospedale Ferrarotto, Catania, Italy

##### IMMUNOHISTOCHEMISTRY

Division of Pathology, Ospedale Vittorio Emanuele, Catania, Italy

#### FUNDINGS

I - PROPOSAL BUDGET		
Costs	List of project overall costs	List of project costs proposed for funding to Celgene
Permanent Staff	€ 125,000.00	
Researcher Contracts	€ 24,000.00	€ 12,000.00
Instruments and Tools (Leasing-Rent)	€ 35,000.00	
Consumables	€ 15,000.00	€ 15,000.00
Published works, Meetings	€ 3,000.00	€ 3,000.00
Overheads	€ 3,000.00	€ 3,000.00
Coordination Costs	€ 2,000.00	€ 2,000.00
	Total € 207,000.00	€ 35,000.00

#### REFERENCES

(Abstracts presented at International conferences, paper in preparation)

1. **Romano A.**, V. Barresi, C. Capizzi, C. Giallongo, N. Musso P. La Cava, C. Vetro, D. Tibullo, N.L. Parrinello, G.A. Palumbo, D.F. Condorelli, L. Liotta, V. Espina, F. Di Raimondo, *Proteomic and Genomic Profile of High-Risk MDS After Treatment With 5-Azacytidine*, Blood (2011) 118: 3818, poster presentation
2. **Romano A.**, Giallongo C., La Cava P., Branca A., Vetro C., Tibullo D., Parrinello N.L., Di Raimondo F., Liotta L., Palumbo G.A., Espina V. *Activation of compensatory survival pathways after treatment with 5-azacytidine in high-risk MDS*, Hematologica (2011) 96 S(3) 53, oral communication
3. **Romano A.**, Giallongo C., La Cava P., Branca A., Vetro C., Parrinello L.N., Di Raimondo F., Liotta L., Palumbo G.A., Espina V. *5-azacytidine induces STAT-5 activation through PLC-γ1 Tyr783*, Leukemia Research, (2011) S(49) 35, poster presentation
4. **Romano A.**, Palumbo G.A., Giallongo C., La Cava P., Branca A., D. Tibullo, Vetro C., Amico I., Di Raimondo F., Liotta L., Espina V. *5-azacytidine activates autophagy independently from status disease and the quality of achieved response* Leukemia Research, (2011) S(49)35, poster presentation