



Ministero della Salute

DIREZIONE GENERALE DELLA RICERCA SANITARIA E BIOMEDICA E DELLA VIGILANZA SUGLI ENTI

Convenzione tra il Ministero della Salute, la Regione Molise, il dott. Francesco Gianfagna, per la regolamentazione dello svolgimento dei programmi della Ricerca Sanitaria relativi al biennio 2011 - 2012, afferenti l'Area - **Giovani Ricercatori (GR) Biomedical**

Convenzione n.167/GR-2011-02351736

Premesso che

a seguito di quanto disposto dall'art. 12 e dall'art. 12 bis del D. Lgs. 30 dicembre 1992 n.502, come modificato e integrato dal D. Lgs. 229/99, concernenti il finanziamento a carico del Ministero della Salute dei progetti di ricerca presentati dai Destinatari Istituzionali, individuati dalla normativa stessa, si rende necessario, ai fini dello svolgimento dei programmi di ricerca finalizzata per il biennio 2011 - 2012, approvati dalla Commissione Nazionale per la Ricerca Sanitaria nella seduta del 23 gennaio 2014, disciplinare i conseguenti rapporti di collaborazione e finanziari;

il Ministro della Salute di concerto con il Ministro dell'Istruzione dell'Università e della Ricerca, su proposta della Commissione Nazionale per la Ricerca Sanitaria e sentita la Conferenza Stato Regioni, nell'ambito del Programma per la Ricerca Sanitaria, ha emanato in data 7 novembre 2012 il Bando della Ricerca Finalizzata 2011 - 2012;

con il Decreto Direttoriale del 28 dicembre 2012, registrato dall'Ufficio Centrale di Bilancio presso questo Ministero -decreti nn. 9335 e 9336 del 21 gennaio 2013-, è stata autorizzata la spesa della somma complessiva di €=132.931.095,00= (centotrentaduemilioniinovecentotrentunomilanovantacinque/00) sul capitolo n.3398 p. g.1"Spese per la ricerca finalizzata in attuazione degli obiettivi prioritari, biomedici e sanitari del Piano Sanitario Nazionale" per la ricerca finalizzata 2011 -2012;

con Decreto Direttoriale del 5 marzo 2014, registrato dall'Ufficio Centrale di Bilancio con visto n. 508 del 12 marzo 2014, sono state approvate le graduatorie relative alle specifiche aree di finanziamento con contestuale ripartizione dei fondi assegnati ai progetti di ricerca finalizzata per il biennio 2011 - 2012 per complessivi di € =125.833.595,00= (centoventicinquemilioniottocentotrentatremilacinquecentonovantacinque/00), così come approvati dalla Commissione Nazionale per la Ricerca Sanitaria nella seduta del 23 gennaio 2014, tra cui è previsto lo svolgimento del Progetto dal titolo "**Neuromedin U pathway in the control of obesity and other hypothalamus-regulated phenotypes**" - codice WFR GR-2011-02351736, presentato dal Destinatario Istituzionale, **Regione Molise**. Per il predetto progetto è stato autorizzato un finanziamento da parte del Ministero della Salute pari a =€.=**336.606,76**= (trecentotrentaseimilaseicentosei/76);

con specifica nota è stato comunicato a tutti i Destinatari Istituzionali la necessità di utilizzare prioritariamente le risorse impegnate a valere sui fondi 2012, non ancora in regime di perenzione, quale anticipo per l'avvio di tutti i progetti utilmente collocati nelle varie graduatorie, con la sola esclusione di quelli rientranti nei programmi Network;

IL MINISTERO DELLA SALUTE

rappresentato dalla Dr.ssa M. Novella Luciani – *Direttore dell'Ufficio IV ex DGRST*

La Regione Molise

(*nel prosieguo denominato Destinatario Istituzionale*)

Rappresentato da - **Dott. Antonio Lastoria** - *Legale Rappresentante*

Il dott. Francesco Gianfagna

(*nel prosieguo denominato Principal Investigator*)

stipulano e convengono quanto segue:

Articolo 1

La presente convenzione regola l'affidamento da parte del Ministero della Salute – Direzione Generale della Ricerca Sanitaria e Biomedica e della Vigilanza sugli Enti - al Destinatario Istituzionale del Progetto di ricerca finalizzata dal titolo “Neuromedin U pathway in the control of obesity and other hypothalamus-regulated phenotypes” che viene finanziato dal Ministero della Salute per un importo di =€.=336.606,76= (trecentotrentaseimilaseicentosei/76) con imputazione all'u.p.b. 3.1.2.10. ricerca scientifica capitolo 3398 P.G.1.

Articolo 2

Il Destinatario Istituzionale ed il Principal Investigator svolgeranno il progetto secondo quanto riportato nel piano esecutivo presentato e approvato da questo Ministero ed in ottemperanza a quanto previsto dal Bando per la ricerca sanitaria 2011 - 2012 di cui in premessa.

Sono allegati alla presente convenzione e ne costituiscono parte integrante: il predetto piano esecutivo, le dichiarazioni indicanti le Unità Operative coinvolte nel progetto, la dichiarazione del Destinatario Istituzionale in cui si precisa che il Responsabile Scientifico svolgerà in via esclusiva la propria attività presso la struttura del SSN individuata dal Destinatario Istituzionale medesimo, il cronoprogramma, unitamente alle schede finanziarie rimodulate.

Articolo 3

La ricerca avrà la durata di tre anni e dovrà avere inizio entro trenta (30) giorni dalla ricezione da parte del Destinatario Istituzionale della nota con la quale il Ministero della Salute – Direzione Generale della Ricerca Sanitaria e Biomedica e della Vigilanza sugli Enti - comunicherà l'avvenuta approvazione e registrazione della presente convenzione.

Il Destinatario Istituzionale dovrà comunicare la data d'inizio della ricerca, con nota sottoscritta dal Coordinatore Scientifico e dal Legale rappresentante del Destinatario Istituzionale medesimo.

Gli adempimenti previsti ai commi 1 e 2 del presente articolo costituiscono presupposti indispensabili per avviare la procedura di cui al successivo art. 4.

Il monitoraggio e la verifica del raggiungimento degli obiettivi del progetto di ricerca di cui alla presente convenzione sono affidati alla Direzione Generale della Ricerca Sanitaria e Biomedica e della Vigilanza sugli Enti.

Le parti convengono che, nel caso il Destinatario Istituzionale sia accreditato ad operare sulla rete del Workflow della Ricerca, le comunicazioni, relative a tale convenzione, saranno effettuate unicamente attraverso il sistema di monitoraggio delle ricerche presente su tale rete.

Articolo 4

La prima rata sarà pari a €=137.567,82= (centotrentasettemilacinquecentosessantasette/82); la procedura per il pagamento di tale rata sarà avviata dopo la comunicazione da parte del Destinatario Istituzionale della data di inizio attività della ricerca, di cui al comma 2 dell'art.3, con contestuale richiesta del pagamento.

La successiva rata pari a €=131.717,59= (centotrentunomilasettecentodiciassette/59) verrà erogata dopo la presentazione ed approvazione della relazione, di cui al successivo art. 5.

Il rimanente saldo pari al 20% del finanziamento totale, di cui all'art.1 della presente convenzione, verrà corrisposto dopo l'approvazione della conclusione del progetto, secondo le modalità stabilite dal successivo art. 7 della presente convenzione.

A garanzia della coerenza con l'inizio dell'attività dichiarata, il Destinatario Istituzionale si impegna ad anticipare le risorse economiche necessarie, nell'eventualità in cui le somme da corrispondersi ricadano in regime di perenzione.

Articolo 5

Il Destinatario Istituzionale dovrà trasmettere, anche per quanto previsto dall'articolo 4, al Ministero della Salute, Direzione Generale della Ricerca Sanitaria e Biomedica e della Vigilanza sugli Enti, allo scadere dei 18 mesi dall'inizio della ricerca e comunque non oltre i sessanta (60) giorni da tale termine, una relazione sullo stato d'attuazione complessivo della ricerca, sottoscritta dal Responsabile Scientifico e dal Legale Rappresentante del Destinatario Istituzionale.

La predetta relazione, oltre a contenere la descrizione dell'attività svolta dalle singole Unità Operative, dovrà anche essere preceduta da una sintesi, a cura del responsabile scientifico del progetto, che descriva nella globalità lo stato di avanzamento dei lavori di ricerca.

Nel caso il Destinatario Istituzionale non adempia a quanto previsto dai precedenti commi, la Direzione Generale della Ricerca Sanitaria e Biomedica e della Vigilanza sugli Enti ha facoltà, previa comunicazione preventiva, di attivare le procedure per la sospensione del finanziamento ed il recupero delle somme erogate comprensive degli eventuali interessi legali maturati.

Nel caso in cui la relazione non sia considerata dalla Direzione Generale della Ricerca Sanitaria e Biomedica e della Vigilanza sugli Enti idonea a dimostrare lo stato di avanzamento della ricerca, secondo quanto previsto nel piano esecutivo approvato, l'Ufficio preposto provvederà a richiedere chiarimenti ed integrazioni al Destinatario Istituzionale che dovrà fornire risposta entro i successivi 30 giorni.

Nel caso i chiarimenti pervenuti non consentano all'Ufficio di esprimere un motivato parere favorevole lo stesso trasmetterà la documentazione alla Commissione Nazionale per la Ricerca Sanitaria per le valutazioni di competenza, dandone comunicazione al Destinatario Istituzionale. E' facoltà del Destinatario Istituzionale presentare le proprie controdeduzioni prima della seduta di valutazione della CNRS. Il Destinatario Istituzionale, s'impegna fin d'ora ad accettare quanto sarà deciso dalla Commissione stessa.

Articolo 6

Durante lo svolgimento della ricerca potranno essere richieste modifiche al piano esecutivo. Tali modifiche, comunque, non dovranno stravolgere l'impianto complessivo del documento originario allegato al presente accordo. Le proposte di variazioni, corredate dalle motivazioni fornite dal responsabile della ricerca dovranno comprovare che le modifiche stesse siano richieste per assicurare il raggiungimento degli obiettivi e che risultino indispensabili per tale finalità. Le richieste in questione dovranno essere sottoposte all'approvazione del Ministero della Salute – Direzione Generale della Ricerca Sanitaria e Biomedica e della Vigilanza sugli Enti - con nota firmata dal Responsabile Scientifico e dal Legale Rappresentante del Destinatario Istituzionale ed avranno effetto solo dopo l'eventuale approvazione.

Si precisa che le eventuali modifiche apportate non devono in ogni caso comportare un aumento del finanziamento a carico del ministero.

Articolo 7

A conclusione del progetto di ricerca, per il pagamento del saldo, dovrà essere inoltrata, non oltre sessanta (60) giorni dalla data del termine della ricerca, al Ministero della Salute – Direzione Generale della Ricerca Sanitaria e Biomedica e della Vigilanza sugli Enti - una relazione conclusiva che dimostri esaurientemente la coerenza dell'attività svolta con il programma esecutivo approvato, gli obiettivi raggiunti e i documenti prodotti e le relative pubblicazioni realizzate, nonché il resoconto economico complessivo delle spese sostenute con i fondi ministeriali, unitamente ad una relazione dettagliata.

La predetta relazione, oltre a contenere la descrizione dell'attività svolta dalle singole unità operative, dovrà anche essere preceduta da una sintesi, a cura del responsabile scientifico del progetto, che descriva nella globalità il risultato della ricerca.

Sia la relazione che il resoconto economico dovranno essere inviati seguendo l'eventuale modulistica predisposta dalla Direzione Generale della Ricerca Sanitaria e Biomedica e della Vigilanza sugli Enti tramite il workflow della ricerca, al fine di consentire il monitoraggio da parte della Commissione Nazionale della Ricerca Sanitaria. L'eventuale documentazione di supporto dovrà rimanere a disposizione della Direzione Generale della Ricerca Sanitaria e Biomedica e della Vigilanza sugli Enti presso il Destinatario Istituzionale che provvederà alla relativa custodia.

Nel caso il Destinatario Istituzionale non adempia a quanto previsto dai commi 1, 2 e 3 del presente articolo, la Direzione Generale della Ricerca Sanitaria e Biomedica e della Vigilanza sugli Enti, previa comunicazione preventiva, attiverà le procedure per la sospensione del finanziamento, richiedendo contestualmente la rendicontazione delle spese sostenute, per le conseguenti valutazioni economiche.

Nel caso in cui la relazione non sia considerata dalla Direzione Generale della Ricerca Sanitaria e Biomedica e della Vigilanza sugli Enti idonea a dimostrare lo stato di avanzamento della ricerca secondo quanto previsto nel piano esecutivo approvato, l'Ufficio preposto, provvederà a richiedere chiarimenti ed integrazioni al Destinatario Istituzionale che dovrà fornire risposta entro i successivi 30 giorni.

Nel caso i chiarimenti pervenuti non consentano all'Ufficio di esprimere un motivato parere favorevole lo stesso trasmetterà la documentazione alla Commissione Nazionale per la Ricerca Sanitaria per le valutazioni di competenza, dandone comunicazione al Destinatario Istituzionale. E' facoltà del Destinatario Istituzionale presentare le proprie controdeduzioni prima della seduta di valutazione della CNRS. Il Destinatario Istituzionale, s'impegna fin d'ora ad accettare quanto sarà deciso dalla Commissione stessa.

Articolo 8

Il Ministero della Salute – Direzione Generale della Ricerca Sanitaria e Biomedica e della Vigilanza sugli Enti - in via autonoma o sentita la Commissione Nazionale per la Ricerca Sanitaria, ha facoltà di chiedere chiarimenti e può disporre verifiche durante lo svolgimento della ricerca.

Articolo 9

Il termine della ricerca potrà essere prorogato dal Ministero della Salute – Direzione Generale della Ricerca Sanitaria e Biomedica e della Vigilanza sugli Enti - per un periodo massimo di mesi 12 dalla data di scadenza iniziale, a seguito di formale, motivata e documentata richiesta del Destinatario Istituzionale inoltrata a firma del Responsabile Scientifico e del Rappresentante Legale, non oltre i novanta (90) giorni precedenti la data di scadenza della presente convenzione.

Articolo 10

La presente convenzione, vincolante all'atto della sottoscrizione per il Destinatario Istituzionale ed il Principal Investigator, sarà tale per il Ministero della Salute solo dopo la sua approvazione e registrazione da parte dei competenti organi di controllo.

Articolo 11

La proprietà degli studi, dei prodotti e delle metodologie sviluppati nell'ambito del progetto è regolamentata dalla normativa vigente in materia, salvo particolari accordi stipulati tra le parti firmatarie del presente atto, ferma restando la possibilità dei soggetti istituzionali del Servizio Sanitario Nazionale di fruirne, previa richiesta alle parti firmatarie. Nel caso il contraente intenda trasferire ad altri soggetti qualsiasi diritto, anche parziale, relativo alla ricerca in questione, ai risultati della stessa o ad eventuali brevetti derivati deve farne esplicita richiesta al Ministero della Salute – Direzione Generale della Ricerca Sanitaria e Biomedica e della Vigilanza sugli Enti -. Qualsiasi documento o prodotto, ivi comprese le pubblicazioni scientifiche, inerenti al progetto deve contenere l'indicazione che gli stessi sono stati ottenuti con il finanziamento del Ministero della Salute.

Il Ministero della Salute applicherà una decurtazione pari al 5% (cinque per cento) del finanziamento complessivo, qualora dalle verifiche effettuate risultasse non attuata la precedente disposizione.

Le parti convengono che il Ministero della Salute potrà dare direttamente diffusione pubblica, anche attraverso il proprio sito web, dei risultati della ricerca sia in forma completa che sintetica e delle pubblicazioni scientifiche da essa derivate.

Articolo 12

I beni e gli strumenti necessari per l'esecuzione del presente progetto, possono essere posti a carico dei fondi ministeriali qualora acquisiti a mezzo leasing, noleggio ovvero in comodato d'uso, per un periodo pari alla durata originale del progetto.

E' fatto divieto di utilizzare i fondi del Ministero della Salute per l'acquisto diretto di apparecchiature e materiale inventariabile e per il pagamento di quote parte stipendiali a favore del personale dipendente.

Per il tempo strettamente necessario all'esecuzione del progetto, sono ammessi unicamente contratti di lavoro subordinati o parasubordinati.

Ogni diversa regolamentazione al riguardo, deve essere adottata con apposito atto scritto fra le parti firmatarie della presente convenzione, da recepire con motivato decreto da sottoporre al visto di competenza degli Organi di Controllo.

Articolo 13

Le parti contraenti prendono atto che il finanziamento del presente progetto ricade nella gestione dei fondi per il finanziamento delle attività di ricerca o sperimentazione, delle unità previsionali di base 3.1.2.10. "Ricerca Scientifica" capitolo 3398, di pertinenza del centro di responsabilità "Dipartimento della Sanità pubblica e dell'Innovazione" – Direzione Generale della Ricerca Sanitaria e Biomedica e della Vigilanza sugli Enti dello stato di previsione del Ministero della Salute, in relazione a quanto disposto dal D.lgs. 502/92 e successive modifiche ed integrazioni.

Articolo 14

Le parti si impegnano all'osservanza, per quanto di rispettiva competenza, delle disposizioni inerenti la tracciabilità dei flussi finanziari contenute nell'art.3 legge 13 agosto 2010 n.136, e successive modifiche ed integrazioni.

Si richiama particolare attenzione, al disposto del comma 5 ove si fa esplicito riferimento al Codice Unico di Progetto (CUP), di cui alla legge 16/01/2003 n.3. A tal fine il Destinatario Istituzionale si impegna a comunicare al Ministero della Salute Direzione Generale della Ricerca Sanitaria e Biomedica e della Vigilanza sugli Enti, il numero di Codice Unico di Progetto (CUP) al momento della comunicazione di cui all'articolo 3 comma 2 della presente convenzione.

PER IL DESTINATARIO ISTITUZIONALE

Regione Molise

Dott. Antonio Lastoria – Legale Rappresentante

c.f. LSTNTN71H22B519Y

PER IL MINISTERO DELLA SALUTE

Il Direttore dell'Ufficio IV ex DGRST

Dr.ssa M. Novella Luciani

IL PRINCIPAL INVESTIGATOR

Dott. Francesco Gianfagna

c.f. GNFFNC78L03B519K

Documento sottoscritto dalle parti con firma digitale, ai sensi dell'art. 21 del d. lgs. 7 marzo 2005, n.82.



Project Title: Neuromedin U pathway in the control of obesity and other hypothalamus-regulated phenotypes
Project Code: GR-2011-02351736
Principal Investigator: Gianfagna Francesco
Research Type: Biomedical/Biomedica
Applicant Institution: Molise

Project Type: Young Researcher (under 40 years)/Giovani Ricercatori

New strategies for diagnostic, therapeutic and clinical care in Metabolism disorders and cardiovascular disease

Project Classification IRG: Genes, Genomes and Genetics

Project Classification SS: Genetics of Health and Disease - GHD

Project Keyword 1: Discovery of genes and genetic variation for human health, disease, and disease susceptibility: Complex and Mendelian diseases such as psychiatric, neurological, ophthalmological, auditory, endocrinological, cardiovascular, developmental, reproductive, oncological, autoimmune, urological, respiratory; use of sophisticated genetic and genomic methods to identify candidate genes, single nucleotide polymorphisms, haplotypes, and copy number variation.

Project Keyword 2:

Project Keyword 3:

Project Request: Animals: Humans: Clinical trial:

The project has already been presented: Project code reference:

Dichiaro che il progetto ha per oggetto prodotti o idee già coperte da brevetto industriale da parte della ditta co-finanziatrice o comunque sulla quale gravano diritti di un soggetto giuridico diverso dal DI.

Overall Summary

Neuromedin U (NMU) is a hypothalamic neuropeptide that regulates metabolic phenotypes. Our preliminary analyses in European children suggested that NMU gene plays an important role in adiposity and bone health. This project aims at investigating the associations between hypothalamus-regulated phenotypes and NMU pathway genes, by: (i) investigating in children and confirming in adults possible associations between polymorphisms in NMU pathway genes and adiposity, insulin resistance, blood pressure and bone health; (ii) verifying gene-gene interaction effects; (iii) identifying specific rare loci or regions with aberrant methylation in the genes confirmed for associations. Two populations of children and adults will be used. A two-step approach will be set-up to identify and replicate associations, considering false discovery rate correction. The results will be useful to identify potential target for novel drugs and to recognize subjects at high risk for metabolic and bone diseases.

Background / State of Art

Obesity is associated with metabolic features, cardiovascular disease, haemorrhagic stroke, cancer and osteoarthritis. About half of Italians are overweight or obese. The increasing prevalence of childhood obesity will dramatically affect public health in the future, since higher BMI in early life increases the adult obesity risk (1). One of the actors involved in obesity risk is NMU, a hypothalamic neuropeptide that regulates autonomic functions. Transgenic mice models showed that NMU inhibits food intake, increases energy expenditure, improve glucose homeostasis and decrease osteoblasts growth, by both central and peripheral actions, through only partially known pathways (2-4). NMU gene polymorphisms were associated with obesity risk in a candidate gene study (5), however, GWA studies identified several related genes associated with hypothalamic regulated traits (4,6-8). Our preliminary analyses in children suggested that NMU gene plays a role in adiposity and bone health (9).



Project Title: Neuromedin U pathway in the control of obesity and other hypothalamus-regulated phenotypes	
Project Code: GR-2011-02351736	Principal Investigator: Gianfagna Francesco
Research Type: Biomedical/Biomedica	Applicant Institution: Molise
Project Type: Young Researcher (under 40 years)/Giovani Ricercatori	

Hyphotesis and Specific AIMS

Hyphotesis and Significance:

Transgenic mouse models suggest a strong effect of NMU pathway in determination of obesity, energy intake and expenditure, insulin sensitivity, lipidemia and bone growth. Variants in genes involved in this pathway could have an impact on individual variability of such parameters. We expect that many of these phenotypes could be regulated by NMU with a pleiotropic effect, in interaction with other genes of the pathway in a non-additive way. Concordant effects of more genes in more phenotypes could help to exclude single associations being potentially false positive.

Furthermore these results will help to strengthen the importance of the pathway, suggesting to investigate in deep drugs targeting the product of the involved genes to use in combination. The presence of an interaction between two gene variants, which we just found in the same database, could explain the absence of NMU polymorphisms in the most significant SNP identified in GWAs, which very seldom consider both the interaction between variants and non-additive genetic models.

Since more than one haplotype could be associated with a phenotype, we expect that this could be explained by unmeasured SNPs, whose alleles are shared by some haplotypes. Furthermore, other rare variants in a gene confirmed to be determinant in a phenotype could have an impact. Then, specific loci important to build new drugs could be identified with exome sequencing.

A consistent percentage of phenotype regulation could be due to aberrant methylation, resulting in different levels of synthesized peptide. To complete the structural analyses, we will thus verify the association between gene methylation and phenotypes.

Specific Aim:

To find associations of genotypes and haplotypes in NMU pathway genes with adiposity-related phenotypes and confirm the associations in adults.

To reply the same analysis using other phenotypes subject to hypothalamic regulation, such as insulin sensitivity, blood pressure and bone health.

To Identify specific loci responsible for the associations or regions with aberrant methylation in the genes confirmed to be associated with hypothalamic-regulated parameters.

Experimental Design Aim 1:

To investigate in children and to confirm in adults possible associations of genotypes and haplotypes in NMU pathway genes with adiposity-related phenotypes.

Twelve NMU pathway genes have been selected among those most associated with adiposity or related phenotypes in GWAs studies or with strong functional data on encoded proteins (2-4, see Pubmed PheGenI tool). One to 3 tag-SNPs will be genotyped for each gene. Beside NMU, we selected 8 genes directly related to NMU function: NMU receptors NMUR1 (peripheral) and NMUR2 (central), neuromedin S (second ligand of NMURs), leptin receptor (signaling regulated by NMU, 10), cholecystokinin (mediates peripheral NMU signaling, 3) propiomelanocortin (overexpressed in brain after NMU administration and hypermethylated in obese, 3,6,11), adrenoceptor beta-2 (mediator of NMU effect on osteoblasts, 4) and 4 genes, strongly associated with phenotypes downstream to NMU in GWAs meta-analyses: insulin receptor, growth factor receptor-bound protein 10, tumor necrosis factor receptor superfamily member 11b and SRY-box 6 (6,7,12).

We will genotype samples of 4,491 children (2-9 yr) recruited in the IDEFICS project (13). Gene-gene interaction analyses will be also performed to improve identification of variants in genes with plausible functional interactions. We expect to identify at least 2 associated SNPs after adjustment for multiple comparisons. Significantly associated SNP will be



Project Title: Neuromedin U pathway in the control of obesity and other hypothalamus-regulated phenotypes	
Project Code: GR-2011-02351736	Principal Investigator: Gianfagna Francesco
Research Type: Biomedical/Biomedica	Applicant Institution: Molise

Project Type: Young Researcher (under 40 years)/Giovani Ricercatori

replicated in a sample of 3000 adults (35-79 yy) recruited in the Osservatorio Epidemiologico Cardiovascolare (OEC, 14). DNA was already extracted in the IDEFICS population and some SNPs (NMU, ADRB2) already genotyped. DNA of OEC samples will be extracted from buffy coat stored in liquid nitrogen, according to standard protocols. Tagging SNPs (r^2 minor 0.8 and a minor allele frequency major 0.05 in Caucasians) will be selected from the release 2.0 Phase II data of the HapMap Project. Genetic variants will be genotyped by a multiplexed end-point assay. The allelic discrimination will be performed by 7500 Fast Real-Time System, using standard reagents and protocols. Result analysis will be made by SDS v1.4 software. A random 5% repeated selection of samples for each SNP will be re-genotyped.

Experimental Design Aim 2:

To perform the same analysis using other adiposity-related phenotypes that are under hypothalamic regulation.

The same design will be replicated focusing on insulin resistance, blood pressure, bone health. Furthermore, combined variables of multiple interrelated phenotypes will be created and their associations with genetic variants will be tested, to discriminate between core and collateral actors involved in phenotype-specific step of the pathway. We expect to find two additional SNPs associated that will be genotyped in the replication sample of 3000 adults.

Experimental Design Aim 3:

To identify either specific rare loci or regions with aberrant methylation in the genes confirmed to be associated with hypothalamic-regulated phenotypes.

Once identified SNPs with the largest impact on studied phenotypes, we will screen the HLBI Exome Sequencing Project Exome Variant Server (<http://evs.gs.washington.edu/EVS/>, exome data from 3500 European Americans) to find rare variants in functional part of the genes in strong linkage disequilibrium with them, to find functional variants potentially responsible for the observed effect. For this purpose, a powered sample of subjects with extreme phenotype (according to the distribution of BMI in the population) carrying the associated alleles will be genotyped. Newly identified associations will be replicated in the whole samples.

Variability in CpG methylation can alter gene function and may play a role in the risk for obesity (15). Since methylation patterns are established early during development and before the separation of germ layers, they are similar in different tissues and cell types and can be identified in a representative manner by the use of easy accessible DNA from peripheral blood cells (16). Since even a single CpG methylation difference can have a strong impact on gene transcription under some circumstances (17), epigenetic differences in genes involved in the NMU pathway will be investigated. Firstly, among the 12 genes of the NMU pathways investigated, those with CpG islands or transcription factor binding site known to have reduced binding activity when methylated will be selected (8 from a first analysis). Then methylation will be measured in a subgroup of 500 subjects selected among those with extreme values of BMI. A associated CpG areas will be replicated in the whole sample.

Quantitative methylation analysis of bisulfite-converted DNA will be performed using TaqMan-based MethyLight PCR reactions (18).

Preliminary Data:

We have studied 4491 children from the IDEFICS population for NMU and ADRB2 variants. We found that wild-type T allele of rs6827359 (allelic prevalence of 51.3%) was associated with higher BMI, weight, hip circumference (codominant model, $p=0.009$, 0.007 , 0.003) and bone stiffness index (dominant model, $p=0.006$), significant after FDR adjustment. The per-allele OR for overweight/obesity was 1.13 (95%CI 1.02-1.26), with a PAR of 6.1%. Adjusting adiposity analyses for bone stiffness and vice versa did not influence the results. Moreover, other two NMU SNPs were measured, giving less



Ministero della Salute
Direzione Generale della Ricerca Sanitaria
e Biomedica e della Vigilanza sugli Enti
BANDO 2011-2012 PROGETTI DI RICERCA
PROGETTO COMPLETO

Project Title: Neuromedin U pathway in the control of obesity and other hypothalamus-regulated phenotypes	
Project Code: GR-2011-02351736	Principal Investigator: Gianfagna Francesco
Research Type: Biomedical/Biomedica	Applicant Institution: Molise

Project Type: Young Researcher (under 40 years)/Giovani Ricercatori

significant results. Haplotype analysis confirmed the results, with the haplotypes carrying the T allele of rs6827359 resulting to be a risk factor for the adiposity profile and bone health.

Picture to support preliminary data:
preliminary data.jpg

Methodologies and statistical analyses:

The project will use data from two cohorts. IDEFICS (<http://www.idefics.eu>) is a large European multi-centre study on childhood dietary- and lifestyle-related disorders, supported by the EU (13). A cohort of 16,224 children of European descent (2-9 yr) was recruited in a population-based survey in 2007-8, in 8 European countries (Belgium, Cyprus, Estonia, Germany, Hungary, Italy, Spain and Sweden). DNA was extracted from 4,678 samples randomly selected from the population, stratified by country (19). All children with genotype, BMI, hip and waist circumferences, birthplace and language spoken at home, age and sex will be included in the present analysis (4,491 children with adiposity indices of which 3,067 children with also quantitative ultrasound sonometry (QUS) at the calcaneus (20).

OEC (<http://www.cuore.iss.it>) is a cohort of random samples of residents in all 20 Italian regions of 4908 men and 4804 women, 35-74 yr, with base-line variables collected in 1998-2002 with comparable standardised methods and with stored biological samples of serum and buffy coats (-196°C, 14).

Both projects collected information on weight, height, waist and hip circumference, fasting serum triglycerides, glucose, insulin and creatinine levels, blood pressure and bone stiffness by calcaneal QUS, detailed information on diet. Weight, height, waist and hip circumference and blood pressure were measured with standardized procedures. Calcaneal QUS was made by Lunar Achilles Insight according to standard protocols for adults and children (20). Fasting triglycerides, glucose, insulin and creatinine were measured with commercial kits.

Statistical analyses will be performed by SAS (v.9.1.3). The genetic model with the best goodness of fit will be checked for each genotype-phenotype association, testing dominance deviation from additivity in a regression analysis including the additive term (considered as default) along with a dominance term.

General linear model and logistic regression analyses will be applied to test the associations between phenotypes and gene variants, adjusting for covariates. To take into account multiple comparisons, FDR adjustment will be made by PROC MULTTEST. The Haplo.stats package will be used to estimate the haplotype frequencies and to verify the associations between haplotype and phenotype. Haplotypes and related posterior probabilities will be then imported in SAS to test the best haplotypic model and to adjust results for FDR as for genotypes.

To include all potentially interacting variants, p for interaction of gene-gene interaction analysis will be evaluated, and interacting SNPs will be replicated in the following step. A genetic score will be computed for categorical phenotypes. A principal factor analysis will be performed to combine the interrelated variables and use the significant factors as dependent variable, to verify pleiotropism of genes.

Expected outcomes, possible problems and solutions:

We expect to confirm in adults associations found in children between NMU gene variants and obesity and to extend the results to other CNS-regulated phenotypes. Moreover, we expect to find variation in methylation patterns associated with obesity. Major problems could be a sufficient study power and to find a sufficient number of associated SNPs for replication analysis.

The step-by-step design of analysis and the number of single and combined phenotype studied will improve the possibility to find a significant result. We expect that the most associated SNP will explain at least 0.4% of the phenotypic variance; 80% power, considering the most conservative hypothesis (Bonferroni correction, on 25 variants: $\alpha = 0.002$; assumed



Project Title: Neuromedin U pathway in the control of obesity and other hypothalamus-regulated phenotypes
Principal Investigator: Gianfagna Francesco
Applicant Institution: Molise

Project Code: GR-2011-02351736

Research Type: Biomedical/Biomedica

Project Type: Young Researcher (under 40 years)/Giovani Ricercatori

effect of age and sex only 5%) is obtained with 4500 subjects. The smaller replication sample of 3000 subjects has similar power, since it will be focused on about 5 SNPs (alfa=0.01). The variance explained by interaction between two significant SNPs is 0.17% and 0.26% in the two samples. We expect to observe stronger results for methylation analysis: the sample of 500 subjects has the 80% power to explain 2% of trait variance with Bonferroni correction (alfa=0.006 for 8 methylations, age-sex effect =5%). Power analysis of rare variants will be performed later, to fit data according to expected prevalences of variants.

Significance and Innovation

NMU is involved in many phenotype, with not completely known mechanisms. Some controversies remained from transgenic mouse models, such as main intermediate actors between NMU and anorexic effect (both vagal and extravagal transmission), NMU receptor involved in insulin resistance, common actors between bone and bmi pathway. The project will use a candidate pathway approach to verify non-additive interactions among functionally related genes (the effect due to gene-gene interaction could be in fact one of the main reasons of missing heritability), to fill the gap in the links and provide stronger biomarkers for therapy planning.

The main factor conferring originality to the project is however the use of a multistep design including genetics, haplotyping, epigenetics and the novel exons fine mapping, which could all be jointly analysed.

Description of the complementary and synergy research team

Dr. Gianfagna will provide the scientific management and the co-ordination of the project with his expertise in genetic epidemiology of chronic-degenerative disease and in genetic analysis and statistics.

Dr. Gianfagna will work in collaboration with the group of scientists of the Moli-sani project that is involved in several epidemiological studies in genetic and environmental epidemiology such as IDEFICS, MOLI-SANI, a cohort study on 25,000 subjects from the general population to study gene-nutrition interaction in cardiovascular disease and cancer, IMMIDIET, a European project on migration across Europe as a model of gene-environment interaction on cardiovascular risk, IGIGI: Genetic determinants of Myocardial infarction at young age, GENDIABE: Genetic determinants of thrombosis in type 2 diabetes. Moreover, he will profit of the genomic facilities of the Parco Tecnologico for genetic analysis.

The OEC is conducted by the Istituto Superiore di Sanità (ISS) in collaboration with the Associazione Nazionale Medici Cardiologi Ospedalieri (ANMCO).

Dr. Gianfagna will work in close collaboration with Dr. Donfrancesco at the Centro Nazionale di Epidemiologia, Sorveglianza e Promozione della Salute of ISS. She will be responsible for OEC data-base harmonization, extraction of the subcohort of adults to be genotyped, shipment of samples to Parco Tecnologico for genetic analysis and cooperation with Dr. Gianfagna in genetic data analysis of the adult population.



Project Title: Neurotrophin U pathway in the control of obesity and other hypothalamus-regulated phenotypes	
Project Code: GR-2011-02351736	Principal Investigator: Gianfagna Francesco
Research Type: Biomedical/Biomedica	Applicant Institution: Molise
Project Type: Young Researcher (under 40 years)/Giovani Ricercatori	

Bibliography

1. Park MH et al. *Obes Rev* 2012;13:985-1000. PMID:22731928
2. Mitchell JD et al. *Br J Pharmacol* 2009;158:87-103. PMID:19519756
3. Peier AM et al. *Endocrinology* 2011;152:2644-54. PMID:21586559
4. Sato S et al. *Nat Med* 2007;13:1234-40. PMID:17873881
5. Hainerová I et al. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:5057-63. PMID:16984985
6. Manning AK et al. *Nat Genet* 2012;44:659-69. PMID:22581228
7. Richards JB et al. *Nat Rev Genet* 2012;13:576-88. PMID:22805710
8. Fox CS et al. *BMC Med Genet.* 2007;8 Suppl 1:S18-23. PMID:17903300
9. Gianfagna F et al, *Blood Transf.* 2012; Sup 4:S55
10. Driessler F et al. *J Mol Endocrinol* 2010;45:175-81. PMID:20660619
11. Kuehnen P et al. *PLoS Genet* 2012;8:e1002543. PMID:22438814
12. Eads CA et al. *Nucleic Acids Res* 2000;28:E32. PMID:10734209
13. Ahrens W et al. *Int J Obes (Lond)* 2011;35S:S3-15. PMID:21483420
14. Vanuzzo D et al. *G Ital Cardiol (Rome)* 2010;11:25S-30S. PMID:20879475
15. Bjornsson HT et al, *Trends Genet* 2004;20:350-8. PMID:15262407
16. Talens RP et al, *FASEB J* 2010;24:3135-44. PMID:20385621
17. Feinberg AP et al. *Sci Transl Med* 2010;2:49ra67. PMID:20844285
18. Johnson T et al. *Am J Hum Genet* 2011;89:688-700. PMID:22100073
19. Cugino et al. *Int J Obes (Lond)* 2013; doi:10.1038/ijo.2013.21
18. Sioen I et al. *Calcif Tissue Int* 2012;91:276-85. PMID:22907129

Timeline / Deliverables / Payable Milestones

TIMETABLE

- a. Tag-SNPs identification, set-up of laboratory protocols (m. 1-3)
- b. Genotyping of IDEFICS samples (m.3-9)
- c. Analysis of genotype/haplotype with BMI (m. 9-10), other and combined phenotypes
- d. DNA extraction of OEC samples (m. 5-11)
- e. Genotyping for replication in OEC (m. 12-15)
- f. Analysis genotype/haplotype with BMI and related manuscript (m. 15-18)
- g. Analysis genotype/haplotype with InsR, BP, bone health and related manuscripts (19-25)
- h. Enrichment of rare variants and genotyping in case-control (m. 22-24)
- i. Replication in cohorts (m. 28-29)
- j. Methylation analysis (m.19-24)
- k. Analysis methylation and related manuscript (m. 25-27) sposta su
- l. Analysis of rare variants and related manuscript (m. 29-31)
- m. Analysis genotype/haplotype with combined phenotypes and related manuscript (m. 32-34)
- n. Project report (m. 12. 24, 36)

DELIVERABLES

- a. Genotyping data of IDEFICS samples (m.10)
- b. Extraction of DNA from OEC samples (m 12)
- c. Genotyping data of OEC samples (m.16)
- d. List of SNPs for enrichment of rare variants (m. 26)
- e. Rare variant genotyping in case-control (m. 28)



Project Title: Neuromedin U pathway in the control of obesity and other hypothalamus-regulated phenotypes	
Project Code: GR-2011-02351736	Principal Investigator: Gianfagna Francesco
Research Type: Biomedical/Biomedica	Applicant Institution: Molise

Project Type: Young Researcher (under 40 years)/Giovani Ricercatori

- f. Genotyping data on rare variants (m.30)
- g. List of CpG areas for methylation analysis (m. 19)
- h. Data on methylation (month 24)
- i. Manuscripts (m. 18, 21, 24, 27, 31, 34)
- j. Reports (m. 12, 24, 36)

Milestones 18 month

- a. Identification of tag-SNPs to be genotyped in prioritised genes (month 3)
- b. Identification of SNPs to be replicated in adults (month 10)
- c. DNA extraction of adult samples (month 13)
- d. Enrichment of rare, potentially functional SNPs (month 14)
- e. Identification of CpG ares in candidate genes (18)
- f. Core papers (month 18)

Milestones 36 month

- a. Genotyping of rare variants in extreme phenotype case-control samples(20)
- b. Replication of results in large cohorts (month 28)
- c. Methylation analysis (month 30)
- d. Core papers (month 36)

Gantt chart

Gannt.pptx

Equipment and resources available

This project will be performed at the Parco Tecnologico of NEUROMED. The Parco covers a surface of 50000 m2 and hosts several laboratories that rely on a team of senior investigators who have a long-lasting experience in research. Their approach ranges from cell and molecular biology systems, to experimental pharmacology and clinical-epidemiological studies, all relevant to the topic of the present application. Genomic and clinical-epidemiological research complement each other contributing to the understanding of disease mechanisms and of new pharmacological approaches.

The scientists have access to sophisticate equipments for genetics and molecular biology, among others real-time PCR and Illumina Hi-scan platform for high-throughput genotyping , methylation analysis and new generation sequencyng. Analytical techniques have been developed for genomic studies, using microarrays and real time PCR. Genetic facilities also includes Thermal cyclers, Electrophoresis Apparatus, 1000 Image analyzer, spectrophotometers, nephelometers,centrifuges, -80 °C and -20 °C refrigerators.

SAS software (SAS Institute Inc. Version 9.1.3 for WINDOWS Cary, NC: SAS Institute Inc. 1989) is available for statistical analysis.



Project Title: Neuromedin U pathway in the control of obesity and other hypothalamus-regulated phenotypes
Project Code: GR-2011-02351736
Principal Investigator: Gianfagna Francesco
Research Type: Biomedical/Biomedica
Applicant Institution: Molise

Project Type: Young Researcher (under 40 years)/Giovani Ricercatori

Translational relevance and impact for the National Health System (SSN)

Genome and epigenome analyses will allow identifying the genes involved in the process. The identification of underlying mechanisms may offer novel insights into the pathogenesis and then provide targets for intervention or biomarkers for risk assessment.

The analysis will be performed in children, where the genetic impact is more determinant, however we will seek confirmation in adults, where it could be easier to intervene.

NMU analogues are being tested for treatment of metabolic diseases. However, they could potentially have negative effects on bone stiffness. Genetic markers in NMU and other CNS-related genes could be useful for planning therapy of metabolic diseases and to recognize subjects with potential adverse effects on bone parameters. Anyway, delving into specific CNS genes involved in different phenotypes could contribute to find new biomarkers for risk assessment and therapy planning, as well as novel specific targets for preventive or therapeutic interventions.

Proposed total budget (Euro)						
Costs	Budget Year 1	Budget Year 2	Budget Year 3	TOTAL BUDGET	Co-Funding	List of costs proposed for funding to the moh
1 Staff salary	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
2 Researchers contracts	73.500,00	73.500,00	73.000,00	220.000,00	0,00	220.000,00
3a Equipment (leasing)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
3b Supplies	51.000,00	51.000,00	40.000,00	142.000,00	0,00	142.000,00
3c Model costs	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4 Subcontracts	6.000,00	6.000,00	4.500,00	16.500,00	0,00	16.500,00
5 Patient costs	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6 IT services and data bases	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7 Travels	2.700,00	3.000,00	3.000,00	8.700,00	0,00	8.700,00
8 Publication costs	0,00	2.200,00	2.200,00	4.400,00	0,00	4.400,00
9 Overheads	13.320,00	13.570,00	12.270,00	39.160,00	0,00	39.160,00
10 Coordination costs	4.000,00	4.000,00	4.000,00	12.000,00	0,00	12.000,00
Total	150.520,00	153.270,00	138.970,00	442.760,00	0,00	442.760,00

Report the Co-Funding Contributor:

None



Ministero della Salute

Direzione Generale della Ricerca Sanitaria
e Biomedica e della Vigilanza sugli Enti

BANDO 2011-2012 PROGETTI DI RICERCA
PROGETTO COMPLETO

Project Title:

Neuromedin U pathway in the control of obesity and other hypothalamus-regulated phenotypes

Project Code: GR-2011-02351736

Principal Investigator: Gianfagna Francesco

Research Type: Biomedical/Biomedica

Applicant Institution: Molise

Project Type: Young Researcher (under 40 years)/Giovani Ricercatori

Budget Justification

1 Staff salary	None
2 Researchers contracts	Unit 1. Salary for the PI full time 36,000€/year for 3 years (=108,000€) Salary of a biologist to be appointed full time 23,500€/year for 3 years (=70,500€) Unit 2. Salary for a statistician 33% of time 13,833€ year for 3 years (=41,500)
3a Equipment (leasing)	None
3b Supplies	3000 samples DNA extraction 6.000€ genotyping (25 SNPs in 4,491 plus 5 SNPs in 3000 replication) 81,000€ rare SNPs genotyping (500) and replication (3.000) 25,000€ methylation analysis (500 samples) and replication (3000 samples) 30,000€
3c Model costs	None
4 Subcontracts	For software management, samples retrieve from liquid nitrogen and sample transport
5 Patient costs	None
6 IT services and data bases	None
7 Travels	Up to 2 % of the total cost for meetings between the two units (2/years) and for congress participation (1 year for two persons)
8 Publication costs	Up to 1% of the budget for publication fees
9 Overheads	10%
10 Coordination costs	2.78% of the study cost for the Molise Region



Project Title:
 Neuromedin U pathway in the control of obesity and other hypothalamus-regulated phenotypes

Project Code: GR-2011-02351736

Principal Investigator: Gianfagna Francesco

Research Type: Biomedical/Biomedica

Applicant Institution: Molise

Project Type: Young Researcher (under 40 years)/Giovani Ricercatori

Proposed total budget UO1 Institution: Molise (Euro)

Costs	Budget Year 1	Budget Year 2	Budget Year 3	TOTAL BUDGET	Co-Funding	List of costs proposed for funding to the moh
1 Staff salary	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
2 Researchers contracts	59.667,00	59.667,00	59.166,00	178.500,00	0,00	178.500,00
3a Equipment (leasing)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
3b Supplies	51.000,00	51.000,00	40.000,00	142.000,00	0,00	142.000,00
3c Model costs	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4 Subcontracts	6.000,00	6.000,00	4.500,00	16.500,00	0,00	16.500,00
5 Patient costs	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6 IT services and data bases	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7 Travels	2.700,00	3.000,00	3.000,00	8.700,00	0,00	8.700,00
8 Publication costs	0,00	2.200,00	2.200,00	4.400,00	0,00	4.400,00
9 Overheads	11.937,00	12.187,00	10.886,00	35.010,00	0,00	35.010,00
10 Coordination costs	4.000,00	4.000,00	4.000,00	12.000,00	0,00	12.000,00
Total	135.304,00	138.054,00	123.752,00	397.110,00	0,00	397.110,00

Report the Co-Funding Contributor:

Proposed total budget UO2 Institution: Istituto Superiore di Sanità (ISS) Roma (Euro)

Costs	Budget Year 1	Budget Year 2	Budget Year 3	TOTAL BUDGET	Co-Funding	List of costs proposed for funding to the moh
1 Staff salary	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
2 Researchers contracts	13.833,00	13.833,00	13.834,00	41.500,00	0,00	41.500,00
3a Equipment (leasing)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
3b Supplies	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
3c Model costs	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4 Subcontracts	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5 Patient costs	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6 IT services and data bases	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7 Travels	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00



Project Title: Neuromedin U pathway in the control of obesity and other hypothalamus-regulated phenotypes
Principal Investigator: Gianfagna Francesco
Applicant Institution: Molise

Project Code: GR-2011-02351736

Research Type: Biomedical/Biomedica

Project Type: Young Researcher (under 40 years)/Giovani Ricercatori

Costs	Budget Year 1	Budget Year 2	Budget Year 3	TOTAL BUDGET	Co-Funding	List of costs proposed for funding to the moh
8 Publication costs	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
9 Overheads	1.383,00	1.383,00	1.384,00	4.150,00	0,00	4.150,00
10 Coordination costs	0,00	0,00	0,00		0,00	
Total	15.216,00	15.216,00	15.218,00	45.650,00	0,00	45.650,00

Report the Co-Funding Contributor:



Project Title: Neuromedin U pathway in the control of obesity and other hypothalamus-regulated phenotypes
Principal Investigator: Gianfagna Francesco
Applicant Institution: Molise

Project Code: GR-2011-02351736
Research Type: Biomedical/Biomedica

Project Type: Young Researcher (under 40 years)/Giovani Ricercatori

PRINCIPAL INVESTIGATOR PROFILE

Name Gianfagna Francesco	Institution Molise
	Department/Unit IRCCS- NEUROMED
	Position Title MD, PhD

Education/Training - Institution and Location	Degree	Year(s)	Field of study
Institute of Hygiene (Prof. Ricciardi G), Catholic University of the Sacred Heart - UCSC, Rome, Italy	2010 - PhD in Healthcare Management	3	Public Health Genomics: heritability and linkage study on novel genetic markers for cardiovascular primary prevention in subjects with familiarity for early myocardial infarction (Moli-sani Project)
Institute of Hygiene (Prof. Ricciardi G), Catholic University of the Sacred Heart - UCSC, Rome, Italy	2007-08 (five one-week courses)	0	Epidemiology: Epidemiologic Principles & Methods (Prof Rothman KJ); Regression Analysis (Prof Lemeshow S); Survival Analysis (Prof Hosmer DW); Clinical Epidemiology (Prof Hofman A), UCSC, Rome, Italy; From genetic epidemiology to public health (Proff CM van Duijn, ACJW Janssens)
Laboratory of Genetic Epidemiology and Molecular Biology (Prof Boccia S), Institute of Hygiene (Prof Ricciardi G), Catholic University of the Sacred Heart - UCSC, Rome, Italy	2007 - Specialization (cum laude) in Public Health	4	Genetic Epidemiology: case-control studies and meta-analyses investigating the effect of gene polymorphisms, environmental exposures and their interactions on cancer risk
University G. D'Annunzio, Chieti, Italy	2003 - Degree (cum laude) in Medicine and Surgery	6	Thesis in Neuroscience on glutamate receptor trafficking: internship in Clinical Neurology (Prof Gambi D) and in Laboratory of Neuronal Death (Prof Sensi S)

Personal Statement

The study aims at confirming a role for selected NMU pathway genes in determining the studied metabolic phenotypes, evaluating the associations between genetic variants and BMI, insulin resistance, BP and bone health, both in adults and in children.

Dr. Gianfagna, with his expertise in genetic epidemiology of chronic-degenerative disease, will (i) co-ordinate the project (ii), manage economical issues, (iii) manage database and analyse data with Dr. Donfrancesco, (iv) write deliverables, reports and manuscripts.



Project Title: Neuromedin U pathway in the control of obesity and other hypothalamus-regulated phenotypes	
Project Code: GR-2011-02351736	Principal Investigator: Gianfagna Francesco
Research Type: Biomedical/Biomedica	Applicant Institution: Molise

Project Type: Young Researcher (under 40 years)/Giovani Ricercatori

Positions and Honors					
Institution	Division / Research group	Location	Position	From year	To year
University of Insubria	Research Centre in Epidemiology and Preventive Medicine ζ EPIMED (Prof Ferrario MM), Department of Clinical and Experimental Medicine (Prof Grandi AM)	Varese, Italy	Postdoctoral fellow	2012	2013
Research and Care Foundation ζ John Paul II ζ , Catholic University of the Sacred Heart	Lab. of Genetic and Environmental Epidemiology (Prof Iacoviello I), Research Laboratories (Prof de Gaetano G)	Campobasso, Italy	Postdoctoral fellow	2008	2012
Catholic University of the Sacred Heart	Laboratory of Genetic Epidemiology and Molecular Biology (Prof Boccia S), Institute of Hygiene (Prof Ricciardi G)	Rome, Italy	Research Fellow	2004	2008
University ζ G. D'Annunzio ζ Faculty of Medicine	Department of Neuroscience (Prof. D. Gambi)	Chieti, Italy	Research Student	2002	2003

Awards and Honors

Official H index: 11.0

Awards and Honors:

Fellowship in Epidemiology (2012-on), University of Insubria, Varese, Italy.

Best publication in 2009 of Tumori: La Torre G, Chiaradia G, Gianfagna F, et al; 6th most cited paper of Current Genomics until 2012: Gianfagna F, De Feo E, van Duijn CM, et al.2008; 3rd most cited paper of Ital J Public Health until 2012: La Torre G, Chiaradia G, Gianfagna F, et al.2006.

1997-2003: Exempted for merit from University fees.

He served as reviewer J Thromb Haemost, Digest Liver Dis, BMC Cancer, Mol Biol Rep, Int J Public Health, Biochem Genet, Int J Env Res Pub He, Ital J Public Health.

Other CV Informations:

Teaching (2008-on) Epidemiology, Biostatistics, Preventive Medicine, Bibliographic search methods; Fac. of Medicine, UCSC, Italy; speaker at 10 scientific events (2 intl, 8 national).

Scientific production: 36 publications in international journals (29 as author, 7 collaborator), 47 abstracts (14 intl, 33 national); h-index(ISI, author) 11; sum of times cited 321, without self-citations 305; average citations per Item 10.4, per year 40.1.

Member of the research groups of Moli-sani Project and IDEFICS Consortium.

Skills: Project and database management, bibliographic search, bioinformatics.



Project Title:
 Neuromedin U pathway in the control of obesity and other hypothalamus-regulated phenotypes

Project Code: GR-2011-02351736

Principal Investigator: Gianfagna Francesco

Research Type: Biomedical/Biomedica

Applicant Institution: Molise

Project Type: Young Researcher (under 40 years)/Giovani Ricercatori

Selected peer-reviewed publications

Best publications with bibliographic data		
Publications	N° of Citations	Impact Factor
Santimone I, Di Castelnuovo AC, de Curtis A, Spinelli M, Cugino D, Gianfagna F, Zito F, Donati MB, Cerletti C, de Gaetano G, Iacoviello L, on behalf of the Moli-sani Project Investigators. White blood cells count, sex and age are major determinants of platelet indices heterogeneity in an adult general population: results from the MOLI-SANI project. <i>Haematologica</i> 2011;96:1180-8	5	6.424
Boccia S, De Feo E, Galli P, Gianfagna F, Amore R, Ricciardi G. A systematic review evaluating the methodological aspects of meta-analyses of genetic association studies in cancer research. <i>Eur J Epidemiol</i> 2010;25:765-75	19	4.713
Gianfagna F, De Feo E, van Duijn CM, Ricciardi G, Boccia S. A systematic review of meta-analyses on gene polymorphisms and gastric cancer risk. <i>Curr Genomics</i> 2008;9:361-74	25	2.408
Boccia S, Hung R, Ricciardi G, Gianfagna F, Ebert MPA, Fang JY, Gao CM, Goetze T, Graziano F, Lacasana-Navarro M, Lin D, Lopez-Carrillo L, Qiao YL, Shen H, Stolzenberg-Solomon R, Takezaki T, Weng YR, Zhang FF, van Duijn CM, Boffetta P, Taioli E. Meta- and pooled analyses of the methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C polymorphisms and gastric cancer risk: A HUGO-GSEC review. <i>Am J Epidemiol</i> 2008;167:505-16	39	5.216
Frustaci A, Pozzi G, Gianfagna F, Manzoli L, Boccia S. Meta-Analysis of the Brain-Derived Neurotrophic Factor Gene (BDNF) Val66Met Polymorphism in Anxiety Disorders and Anxiety-Related Personality Traits. <i>Neuropsychobiology</i> 2008;58:163-170	43	2.675

Best publications on the same topic of the project proposal		
Publications	N° of Citations	Impact Factor
Cugino D, Gianfagna F, Ahrens W, De Henauw S, Koni AC, Marild S, Molnar D, Moreno LA, Pitsiladis Y, Russo P, Siani A, Tornaritis M, Veidebaum T, Iacoviello L, on behalf of the IDEFICS Consortium. Polymorphisms of matrix metalloproteinase gene and adiposity indices in European children: results of the IDEFICS study. <i>Int J Obes (Lond)</i> 2013, in press	0	4.691
Gianfagna F, Cugino D, Santimone I, Iacoviello L. From candidate genes to genome-wide association studies in cardiovascular disease. <i>Thromb Res</i> 2012;129:320-4	1	2.44
Boccia S, Boffetta P, Brennan P, Ricciardi G, Gianfagna F, Matsuo K, van Duijn CM, Hung RJ. Meta-analyses of the methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C polymorphisms and risk of head and neck and lung cancer. <i>Cancer Lett</i> 2009;273:55-61	23	4.238
Boccia S, Hung R, Ricciardi G, Gianfagna F, Ebert MPA, Fang JY, Gao CM, Goetze T, Graziano F, Lacasana-Navarro M, Lin D, Lopez-Carrillo L, Qiao YL, Shen H, Stolzenberg-Solomon R, Takezaki T, Weng YR, Zhang FF, van Duijn CM, Boffetta P, Taioli E. Meta- and pooled analyses of the methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C polymorphisms and gastric cancer risk: A HUGO-GSEC review. <i>Am J Epidemiol</i> 2008;167:505-16	39	5.216
Boccia S, Sayed-Tabatabaei FA, Persiani R, Gianfagna F, Rausei S, Arzani D, La Greca A, D'Ugo D, La Torre G, van Duijn CM, Ricciardi G. Polymorphisms in metabolic genes, their combination and interaction with tobacco smoke and alcohol consumption and risk of gastric cancer: a case-control study in an Italian population. <i>BMC Cancer</i> 2007;7:206-	40	3.011



Ministero della Salute

Direzione Generale della Ricerca Sanitaria
e Biomedica e della Vigilanza sugli Enti

BANDO 2011-2012 PROGETTI DI RICERCA
PROGETTO COMPLETO

Project Title:

Neuromedin U pathway in the control of obesity and other hypothalamus-regulated phenotypes

Project Code: GR-2011-02351736

Principal Investigator: Gianfagna Francesco

Research Type: Biomedical/Biomedica

Applicant Institution: Molise

Project Type: Young Researcher (under 40 years)/Giovani Ricercatori

Most recent publications

Publications	N° of Citations	Impact Factor
Cugino D, Gianfagna F, Ahrens W, De Henauw S, Koni AC, Marild S, Molnar D, Moreno LA, Pitsiladis Y, Russo P, Siani A, Tornaritis M, Veidebaum T, Iacoviello L, on behalf of the IDEFICS Consortium. Polymorphisms of matrix metalloproteinase gene and adiposity indices in European children: results of the IDEFICS study. <i>Int J Obes (Lond)</i> 2013, in press	0	4.691
Gianfagna F, Tamburrelli C, Vohnout B, Crescente M, Izzi B, Pampuch A, De Curtis A, Di Castelnuovo A, Cutrone A, Napoleone E, Tayo B, Lorenzet R, Nanni L, Arca M, Donati MB, de Gaetano G, Cerletti C, Iacoviello L, on behalf of the Moli-family Study Investigators. Heritability, genetic correlation and linkage to the 9p21 region of mixed platelet-leukocyte conjugates in families with and without early myocardial infarction. <i>Nutr Metab Cardiovasc Dis</i> 2012, in press. 10.1016/j.numecd.2012.02.008	0	3.731
Rago L, Di Castelnuovo A, Assanelli D, Badilini F, Vaglio M, Gianfagna F, Salvetti M, Zito F, Alessandrini F, Donati MB, de Gaetano G, Iacoviello L. T-wave axis deviation, metabolic syndrome and estimated cardiovascular risk - In men and women of the MOLI-SANI study. <i>Atherosclerosis</i> 2013;226:412-8	0	3.794
Sioen I, Mouratidou T, Herrmann D, De Henauw S, Kaufman JM, Molnár D, Moreno LA, Marild S, Barba G, Siani A, Gianfagna F, Tornaritis M, Veidebaum T, Ahrens W, on behalf of the IDEFICS consortium. Relationship between markers of body fat and calcaneal bone stiffness differs between pre-school and primary school children: results from the IDEFICS baseline survey. <i>Calcif Tissue Int</i> 2012;91:276-85	0	2.376
Cugino D, Gianfagna F, Santimone I, de Gaetano G, Donati MB, Iacoviello I, Di Castelnuovo A. Type 2 diabetes and polymorphisms on chromosome 9p21: a meta-analysis. <i>Nutr Metab Cardiovasc Dis</i> 2012;22:619-25	5	3.731



Ministero della Salute
 Direzione Generale della Ricerca Sanitaria
 e Biomedica e della Vigilanza sugli Enti
 BANDO 2011-2012 PROGETTI DI RICERCA
 PROGETTO COMPLETO

Project Title: Neuromedin U pathway in the control of obesity and other hypothalamus-regulated phenotypes
Project Code: GR-2011-02351736
Principal Investigator: Gianfagna Francesco
Research Type: Biomedical/Biomedica
Applicant Institution: Molise

Project Type: Young Researcher (under 40 years)/Giovani Ricercatori

Biographical Sketch Contributors 1

Name: Chiara Donfrancesco
 Institution and Position Title: Istituto Superiore di Sanità (ISS) Roma
 Researcher

Personal Statement:
 The study aims at confirming a role for selected NMU pathway genes in determining the studied metabolic phenotypes in OEC adult and IDEFICS children populations.
 Dr. Donfrancesco, member of the research group of the OEC Project, with her expertise in database management and statistical analysis, will (i) co-ordinate the management of OEC samples and data and (ii) will cooperate with Dr. Gianfagna in data analyses.

Institution	Division / Research group	Location	Position	From year	To year
Istituto Superiore di Sanità, National Centre for Epidemiology, Surveillance and Health Promotion	Unit of Cerebro and Cardiovascular Disease	Rome, Italy	Researcher	2005	2013
Policlinico Umberto I - University of Rome La Sapienza	Unit of Paediatric Surgery	Rome, Italy	Responsible of statistical analyses	2004	2005
Faculty of Statistical Sciences of the University of Rome La Sapienza	Department of demographic science	Rome, Italy	Researcher	2004	2004

Awards and Honors

Official H index: 7.0

Awards and Honors:
 Responsible of the ISS Operative Unit, Project MINISAL-GIRCSI.
 Responsible of urine samples, OEC/MINISAL-GIRCSI.
 PI of the Italian cohort of the FINE Study within the EMERGING RISK FACTORS COLLABORATION.
 Member of the research group of the CUORE Project and OEC.
 61 published manuscripts and 79 abstracts.
 Speaker at 20 scientific conferences.
 Teaching at 40 training courses for health operators on `Use of the Italian CV risk chart`.
 Associate editor of BMC Cardiovasc Disord.
 Members of the Italian National Epidemiologic Bulletin scientific committee.
 PhD student at the Maastricht University.

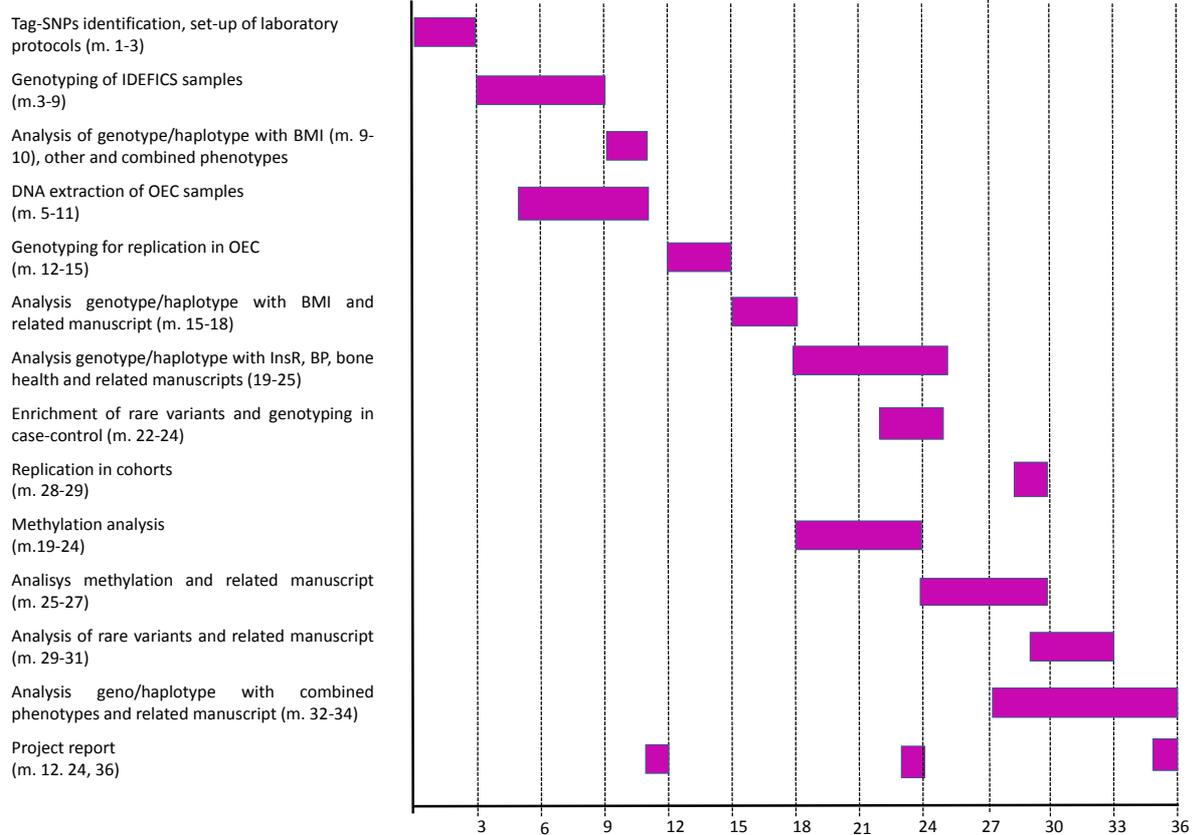


Ministero della Salute
Direzione Generale della Ricerca Sanitaria
e Biomedica e della Vigilanza sugli Enti
BANDO 2011-2012 PROGETTI DI RICERCA
PROGETTO COMPLETO

Project Title: Neuromedin U pathway in the control of obesity and other hypothalamus-regulated phenotypes	
Project Code: GR-2011-02351736	Principal Investigator: Gianfagna Francesco
Research Type: Biomedical/Biomedica	Applicant Institution: Molise
Project Type: Young Researcher (under 40 years)/Giovani Ricercatori	

Principal Investigator Data

Cognome: Gianfagna
Nome: Francesco
Codice fiscale: GNFFNC78L03B519K
Data di nascita: 03/07/78
Luogo di nascita: Campobasso
Provincia di nascita: CB
Indirizzo lavorativo: Largo A. Gemelli 1
Città: Campobasso
CAP: 86100
Provincia: CB
Email: francescogianfagna@yahoo.it
Altra email: francesco.gianfagna@moli-sani.org
Telefono: 3479940654
Altro telefono: 0874312585
Fax: 0874312270
Qualifica: Medico ricercatore
Struttura: Fondazione di Ricerca e Cura "Giovanni Paolo II"
Istituzione: Laboratori di Ricerca



	Mean (SD)	Beta (SD)	<i>P</i>	<i>P</i> (FDR adj.)	<i>P</i> Haplotype§
BMI	16.3 (2.3)	0.1 (0.05)	0.009	0.02	0.009
Weight	23.0 (6.9)	0.3 (0.1)	0.007	0.03	0.01
Waist circumference	54.2 (6.8)	0.2 (0.1)	0.09	0.06	0.02
Hip circumference	62.8 (7.9)	0.3 (0.1)	0.003	0.01	0.01
Bone Stiffness	79.7 (13.6)	1.8 (0.6)	0.006	0.008	0.04

Table 1. Preliminary results on IDEFICS population. Associations between rs6827359 C allele and anthropometric measures (codominant model) or bone stiffness (dominant model). These results were presented at the XXIII congress of the Italian Society of Haemostasis and Thrombosis and at the Annual IDEFICS meeting in Saragoza (Spain). A manuscript has been submitted to the Journal of Bone and Mineral Research.

§ TCC haplotype vs the most prevalent CTT (rs9999653, rs12500837, rs6827359)



Ministero della Salute

Direzione Generale Ricerca Sanitaria e Biomedica e della Vigilanza Enti

BANDO PROGETTI DI RICERCA

GIOVANI RICERCATORI - RICERCA FINALIZZATA 2011-212

Codice Progetto: GR-2011-02351736

Progetto: NMU pathway in the control of obesity and other hypothalamus-regulated phenotypes

Destinatario Istituzionale: Regione Molise

DATI DEL PRINCIPAL INVESTIGATOR E DEI COORDINATORI DELLE UNITA' OPERATIVE

Nome	Cognome	Data di Nascita	Codice Fiscale
Francesco	Gianfagna	03-07-1978	GNFFNC78L03B519K

RIFERIMENTI PROFESSIONALI

Sede Lavoro	IRCCS Istituto Neurologico Mediterraneo Neuromed		
Posizione Attuale	Consulente in convenzione		
Indirizzo Lavoro	Via Atinense 18, 86077 Pozzilli (IS)		
Sede di svolgimento del Progetto	Unità di Epidemiologia e Prevenzione, IRCCS Istituto Neurologico Mediterraneo Neuromed		
	Telefono	Fax	E-mail
	0865 929664	0865 927575	francescogianfagna@yahoo.it
			Cellulare
			3479940654

UNITA' OPERATIVE

U.O.1-Istituzione	IRCCS Istituto Neurologico Mediterraneo Neuromed		
Divisione	Unità di Epidemiologia e Prevenzione		
Responsabile U.O.	Dr. Franco Gianfagna		
Indirizzo Lavoro	Via Atinense 18, 86077 Pozzilli (IS)		
	Telefono	Fax	E-mail
	0865 929664	0865 927575	francescogianfagna@yahoo.it

U.O.2-Istituzione	Istituto Superiore di Sanità		
Divisione	National Centre for Epidemiology, Surveillance and Health Promotion		
Responsabile U.O.	Dr.ssa Chiara Donfrancesco		
Indirizzo Lavoro	Via Giano Della Bella 34, 00162 Roma		
	Telefono	Fax	E-mail
	06 4990 4226	06 4990 4227	chiara.donfrancesco@iss.it

U.O.3-Istituzione			
Divisione			
Responsabile U.O.			
Indirizzo Lavoro			
	Telefono	Fax	E-mail

DICHIARAZIONE SU POSIZIONE DEL PRINCIPAL INVESTIGATOR

Il sottoscritto Antonio Lastoria nato a Campobasso il 22/06/1971

in ossequio agli adempimenti di cui al Bando Ricerca Finalizzata 2011-212, in qualità di Rappresentante Legale del Destinatario Istituzionale Regione Molise ai sensi degli artt. 12 e 12bis D.Lgs 502/92, dichiara sotto la propria responsabilità quanto segue.

Il Principal Investigator (PI) del progetto sopra indicato è: Francesco Gianfagna

Che attualmente opera presso: Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università dell'Insubria di Varese

Con la qualifica di: Ricercatore

Che svolgerà le attività del progetto presso la seguente struttura del SSN afferente a questo Destinatario Istituzionale:

Denominazione Struttura SSN dove sarà svolta la ricerca : IRCCS Istituto Neurologico Mediterraneo Neuromed

Reparto/Divisione/Laboratorio dove sarà svolta la ricerca : Unità di Epidemiologia e Prevenzione

Nel caso l'attività del PI per la ricerca in questione fosse svolta attraverso un accordo regolativo/convenzione indicare:

Tipologia dell'accordo regolativo del rapporto: convenzione, sottoscritto il 18-04-2014, per la durata di mesi 36, di cui si allega copia alla presente

La ricerca verrà svolta da P.I. con rapporto di esclusività .

BANDO PROGETTI DI RICERCA GIOVANI RICERCATORI - RICERCA FINALIZZATA 2011-212	<i>Codice Progetto: GR-2011-02351736</i>	Destinatario Istituzionale: Regione Molise
---	--	---

BUDGET SINTETICO – FINANZIAMENTO A CARICO DEL MOH

VOCI DI SPESA	RIPARTIZIONE FINANZIAMENTO
Personale a Contratto (Personell-Researcher Contracts)	€ 103.550,00
Missioni (Travels)	€ 5.952,00
Attrezzature (Leasing-Affitto) (Equipment)	€ 0
Consumi (Consumables)	€ 185.164,76
Pubblicazioni, Convegni (Publication Costs)	€ 2.976,00
Elaborazione Dati (IT Services and Data Bases)	€ 0
Spese di Coordinamento (Coordination Costs)	€ 9.200,00
Spese Generali (Overheads)	€ 29.764,00
TOTALE	€ 336.606,76

BUDGET ANALITICO

COSTI	BUDGET TOTALE	COFINANZIAMENTI (**)	COSTI COMPLESSIVI A CARICO DEL MOH	UO1 IRCCS Istituto Neurologico Mediterraneo Neuromed COSTI A CARICO DEL MOH	UO2 Istituto Superiore di Sanità COSTI A CARICO DEL MOH	UO3 / COSTI A CARICO DEL MOH
1 PERSONELL- Staff Salary	€ 104.694,18	€ 104.694,18	NOT PERMITTED	NOT PERMITTED	NOT PERMITTED	NOT PERMITTED
2 PERSONELL - Researchers Contracts	€ 103.550	€ 0	€ 103.550	€ 72.000	€ 31.550	/
3. Equipment (Leasing-Rent)	€ 0	€ 0	€ 0	€ 0	€ 0	/
4a. CONSUMABLES-Supplies	€ 165.164,76	€ 0	€ 165.164,76	€ 165.164,76	€ 0	/
4b. CONSUMABLES Model Costs	€ 0	€ 0	€ 0	€ 0	€ 0	/
4c. CONSUMABLES Subcontracts	€ 20.000	€ 0	€ 20.000	€ 20.000	€ 0	/
4d. CONSUMABLES Patient costs	€ 0	€ 0	€ 0	€ 0	€ 0	/
5. IT Services and Data Bases	€ 0	€ 0	€ 0	€ 0	€ 0	/
6. Travels	€ 6.717	€ 0	€ 5.952	€ 5.952	€ 0	/
7. Publication Costs	€ 3.350	€ 0	€ 2.976	€ 2.976	€ 0	/
8. Overheads	€ 29.764	€ 0	€ 29.764	€ 26.609	€ 3.155	/
9. Coordination Costs	€ 9.200	€ 0	€ 9.200	€ 9.200	NOT PERMITTED	NOT PERMITTED
Total	€ 442.439,94	€ 104.694,18	€ 336.606,76	€ 301.901,76	€ 34.705	/

(**) Report the Co-Funding Contributor/s: Università dell'Insubria di Varese

BANDO PROGETTI DI RICERCA GIOVANI RICERCATORI - RICERCA FINALIZZATA 2011-212	Codice Progetto: GR-2011-02351736	Destinatario Istituzionale: Regione Molise
---	---	---

FINANZIAMENTO MOH – UTILIZZO - UO1- Istituzione: IRCCS Istituto Neurologico Mediterraneo Neuromed

2. Researchers Contracts: N° Contracts 1 Months/Person 36 Expertise Biologist 24000€/year for 3 years (=72000€). Contracts for PI is now co-funded
3. Equipment (Leasing-Rent): None
4a. Supplies: DNA extraction : 10000€ ; genotyping (25 SNPs in 5,000 plus 5 SNPs in 3000 replication) 10000€ rare SNPs genotyping (500) and replication (3.000) 25000€ methylation analysis (500 samples) and replication (3000 samples) 30164,76€
4b. Model Costs: None
4c. Subcontracts: samples retrieve from liquid nitrogen and sample transport, osteodensity measurements in external recruitment (EPICOMED Research srl)
4d. Patient costs: None
5. IT Services and Data Bases: None
6. Travels: Up to 2 % of the total cost for meetings between the two units and for congress participation
7. Publication Costs: Up to 1% of the budget for publication fees
8. Overheads: up to 10%
9. Coordination Costs: 2.7% of the study cost for the Molise Region

FINANZIAMENTO MOH – UTILIZZO – UO2- Istituzione: Istituto Superiore di Sanità

2. Researchers Contracts: N° Contracts 1 Months/Person 12 Expertise Salary for a statistician 50% of time (31,550e) for 2 nd year
3. Equipment (Leasing-Rent): None
4a. Supplies: None
4b. Model Costs: None
4c. Subcontracts: None
4d. Patient costs: None
5. IT Services and Data Bases: None
6. Travels: None
7. Publication Costs: None
8. Overheads: up to 10%

FINANZIAMENTO MOH – UTILIZZO – UO3- Istituzione: /

2. Researchers Contracts: N° Contracts Months/Person Expertise.....
3. Equipment (Leasing-Rent):
4a. Supplies :
4b. Model Costs:
4c. Subcontracts:
4d. Patient costs:
5. IT Services and Data Bases:
6. Travels:
7. Publication Costs:
8. Overheads:

Titolo del progetto: GR-2011-02351736 Gianfagna Francesco

Il pathway della Neuromedina U nel controllo dell'obesità e di altri fenotipi regolati dall'ipotalamo

Overall Summary

La Neuromedina U (NMU) è un neuropeptide ipotalamico che regola i fenotipi metabolici. Una nostra analisi preliminare su bambini europei ha suggerito che questa gioca un ruolo importante nella regolazione della massa grassa e di quella ossea.

Il progetto è finalizzato a studiare l'associazione tra i fenotipi metabolici a regolazione ipotalamica e i geni del pathway della NMU, attraverso: (i) lo studio nei bambini e la conferma negli adulti della possibile associazione tra polimorfismi nei geni del pathway della NMU e massa grassa, resistenza insulinica, pressione sistolica e massa ossea; (ii) lo studio degli effetti delle interazioni tra geni; (iii) lo studio di specifiche mutazioni rare in loci genici o di specifiche regioni con alterata metilazione nei geni per i quali sarà stata confermata l'associazione osservata nella prima fase dello studio. Saranno utilizzate popolazioni di bambini e adulti. Sarà impostato un approccio a due step per identificare e replicare le associazioni, correggendo la sovrastima dell'effetto dovuto all'effettuazione di molteplici analisi e al conseguente potenziale riscontro di falsi positivi (*false discovery rate correction*). I risultati saranno utili per identificare potenziali target per nuovi farmaci e per identificare i soggetti ad alto rischio di patologie metaboliche e ossee sui quali intervenire precocemente.

Background / Stato dell'arte

La presenza di obesità è stata associata alla presenza di alterazioni metaboliche, patologie cardiovascolari, stroke emorragico, neoplasie e osteoartrite. Circa la metà degli Italiani sono sovrappeso o obesi. L'aumento della prevalenza dell'obesità infantile condiziona in futuro drammaticamente la sanità pubblica, poiché un alto BMI durante l'infanzia aumenta il rischio di obesità anche nell'età adulta (1). Uno degli attori coinvolti nel rischio di obesità è la NMU, un neuropeptide ipotalamico che regola alcune funzioni autonome. Modelli di topi transgenici hanno mostrato che la NMU inibisce l'intake alimentare, aumenta la spesa energetica, migliora l'omeostasi glucidica e diminuisce la crescita degli osteoblasti, attraverso vie centrali e periferiche, mediante meccanismi solo parzialmente noti (2-4). I polimorfismi del gene della NMU sono stati associati all'obesità in un studio su geni candidati (5), tuttavia, studi di *genome wide* hanno associato molti geni, correlati alla NMU, a fenotipi regolati dall'ipotalamo (4,6-8). Le nostre analisi preliminari nei bambini suggeriscono che la NMU giochi un ruolo nella regolazione della massa grassa e di quella ossea (9).

Ipotesi e obiettivi specifici

Ipotesi e significatività

Modelli di topi transgenici hanno suggerito un forte effetto del pathway della NMU nella determinazione di obesità, intake alimentare, spesa energetica, resistenza insulinica, dislipidemia e crescita ossea. Varianti nei geni coinvolti in questo pathway potrebbero avere un impatto sulla variabilità individuale di tali parametri. Noi ci aspettiamo che molti di questi fenotipi siano regolati dalla NMU con un effetto pleiotropico, interagendo con altri geni del pathway in modo non additivo. Effetti concordanti di più geni su più fenotipi potrebbero aiutare a confermare che una eventuale associazione non isolata sia reale, non sia un falso positivo. Inoltre questi risultati aiuteranno a rinforzare l'importanza del pathway, suggerendoci di studiare in dettaglio i farmaci diretti sui prodotti dei geni coinvolti, da usare eventualmente in combinazione. La presenza di un'interazione tra due varianti geniche, come abbiamo appena osservato nel nostro database, potrebbe spiegare perché tra i polimorfismi riconosciuti associati dagli studi *genome wide* non ci siano i polimorfismi della NMU. Gli studi di *genome wide* molto di rado considerano l'interazione tra varianti, come anche modelli genetici non additivi. Poiché più di un aplotipo potrebbe essere associato a un fenotipo, noi ci aspettiamo che questo possa essere spiegato da SNPs non misurati, i cui alleli sono condivisi da più aplotipi.

Potrebbero avere un impatto anche altre varianti, rare. Quindi alcuni loci specifici importanti per poter identificare nuovi farmaci potrebbero essere identificati con il sequenziamento degli esoni dei geni risultati associati. Infine, una larga parte della regolazione di un fenotipo potrebbe essere dovuta a un'alterata metilazione, che può essere in differenti livelli del peptide sintetizzato. A complemento delle analisi strutturali, verificheremo quindi anche l'associazione della metilazione genica con i fenotipi.

Obiettivo specifico:

Trovare associazioni di genotipi e alotipi in geni del pathway della NMU con i fenotipi correlati all'obesità e confermare le associazioni negli adulti. Replicare la stessa analisi usando altri fenotipi regolati dall'ipotalamo, quali la resistenza insulinica, la pressione arteriosa e la massa ossea. Identificare le varianti geniche o le regioni con alterata metilazione nei geni per i quali l'associazione con i fenotipi ipotalamici è stata poi confermata.

Disegno sperimentale dello scopo 1:

Verificare le possibili associazioni dei genotipi o degli alotipi in geni nel pathway della NMU con fenotipi correlati all'obesità, in bambini e negli adulti. Dodici geni del pathway della NMU sono stati selezionati scegliendo tra i più associati con l'obesità o con fenotipi correlati in studi di *genome wide*, o tra quelli con dati funzionali relativi alle proteine sintetizzate molto evidenti (2-4, vedere Pubmed *PheGenI* tool). Saranno genotipizzati da 1 a 3 *tag* SNP per ogni gene. Oltre alla NMU, abbiamo selezionato 8 geni direttamente correlati alla funzione della NMU: i recettori della NMU NMUR1 (periferico) e NMUR2 (centrale), la neuromedina S (secondo ligando dei recettori della NMU), il recettore della leptina (il cui signaling è regolato dalla NMU, 10), la colecistochinina (media il segnale periferico della NMU, 3) la propiomelanocortina (overespressa nel cervello dopo la somministrazione di NMU e negli obesi con ipermetilazione del gene, 3,6,11), il recettore adrenergico beta-2 (ADRB2, mediatore dell'effetto della NMU sugli osteoblasti, 4) e 4 geni fortemente associati con fenotipi a valle della NMU in meta-analisi di studi di *genome wide*: il recettore dell'insulina, la GFRBP10, il TNFRSm11b e il SRY-box 6 (6,7,12). Genotipizzeremo i campioni di 4,491 bambini (2-9 anni) reclutati nell'ambito del progetto IDEFICS (13). Saranno effettuate anche analisi di interazione tra geni per migliorare l'identificazione di varianti in geni con potenziali interazioni funzionali. Noi ci aspettiamo di identificare almeno due SNPs associati, dopo l'adjustment per comparazioni multiple. Gli SNP associati significativamente saranno replicati in un campione di 3000 adulti (35-79 anni) reclutati nell'ambito dell'Osservatorio Epidemiologico Cardiovascolare (OEC, 14). Il DNA è stato già estratto nella popolazione di IDEFICS e alcuni SNP (NMU, ADRB2) sono stati già genotipizzati. Il DNA dei campioni dell'OEC saranno estratti dal buffy coat conservato in azoto liquido, secondo protocolli standard. I *tagging* SNPs ($r^2 < 0.8$ e $MAF > 0.05$ nei Caucasicci) saranno selezionati dai dati dell'HapMap Project, release 2.0 Phase II. Le varianti genetiche saranno genotipizzate con un test a end-point multipli. La discriminazione allelica sarà effettuata con il 7500 Fast Real-Time System, usando reagenti e protocolli standard. L'analisi dei risultati sarà effettuata con il software SDS v1.4. Il 5% dei campioni, selezionato random, verrà genotipizzato per ogni SNP una seconda volta per verificare l'efficacia del metodo.

Disegno sperimentale dello scopo 2:

Effettuare la stessa analisi usando gli altri fenotipi a regolazione ipotalamica. Lo stesso disegno viene quindi replicato su resistenza insulinica, pressione arteriosa e massa ossea. Inoltre verranno create variabili che combinano insieme le varie misure tra loro correlate e verranno testate le associazioni tra queste e le variabili genetiche, per cercare di identificare gli attori coinvolti in processi comuni a più fenotipi. Ci aspettiamo di identificare almeno altri 2 SNPs associati che saranno quindi inclusi tra quelli da genotipizzare anche nel campione di replicazione di 3000 adulti.

Disegno sperimentale dello scopo 3:

Identificare varianti rare di loci specifici o regioni del DNA con alterata metilazione, in geni per i quali l'associazione con i fenotipi ipotalamici è stata confermata. Una volta identificati gli SNP con il più grande impatto sui fenotipi studiati, cercheremo nel HLI Exome Sequencing Project Exome Variant Server

(<http://evs.gs.washington.edu/EVS/>, dati sull'esoma di 3500 Americani di origine europea) varianti rare in regioni funzionali dei geni in forte linkage disequilibrium con loro, e identificare quindi le varianti funzionali potenzialmente responsabili dell'effetto osservato. A questo scopo, verrà genotipizzato un campione, con sufficiente potenza statistica, di soggetti con fenotipi estremi (secondo la distribuzione del BMI nella popolazione) portatori degli alleli associati. Le nuove associazioni identificate saranno replicate nell'intero campione. La variabilità nella metilazione delle isole CpG potrebbe alterare la funzione genica e potrebbe avere un ruolo nel rischio di obesità (15). Poiché i pattern di metilazione si determinano presto durante la vita embrionale e prima della separazione dei foglietti embrionali, questi sono simili in tutti i tessuti e in tutti i tipi di cellule e potrebbero essere identificati facilmente attraverso lo studio della metilazione nel DNA dei più accessibili leucociti circolanti (16). Poiché in alcune circostanze la differenza anche solo in una singola metilazione CpG potrebbe avere un forte effetto sulla trascrizione del gene (17), nei geni del pathway della NMU verranno studiate anche le differenze epigenetiche. In primo luogo, tra i 12 geni del pathway studiati saranno selezionati (8 da una prima analisi) quelli con isole CpG o transcription factor binding site noti per aver mostrato un ridotto legame se metilati. Quindi la metilazione verrà misurata in un sottogruppo di 500 soggetti selezionati tra quelli con valori estremi di BMI. Le regioni metilate risultate associate saranno replicate nell'intero campione. Verrà effettuata un'analisi quantitativa della metilazione del DNA pre-trattato con bisolfito usando la TaqMan-based MethyLight PCR (18).

Dati preliminari

Con il nostro gruppo di ricerca abbiamo genotipizzato varianti dei geni NMU and ADRB2 in 4491 bambini reclutati in uno studio di coorte (IDEFICS). Abbiamo osservato che la presenza dell'allele wild-type T dello SNP rs6827359 (frequenza allelica 51.3%) era associata con il riscontro di valori più alti di BMI, peso, circonferenza fianchi (modello codominante, $p=0.009$, 0.007 , 0.003) e rigidità ossea (bone stiffness index, modello dominante, $p=0.006$), statisticamente significativi anche dopo correzione con *FDR adjustment*. L'OR per-allele per sovrappeso/obesità è stato 1.13 (95%CI 1.02-1.26), con un PAR del 6.1%. I risultati delle analisi sulle variabili connesse alla massa grassa e sulla rigidità ossea non erano influenzate dall'inserimento nel modello dell'una o dell'altra variabile come covariate. Inoltre, sono stati genotipizzati anche altri due SNPs della NMU, i quali avevano dato risultati meno significativi. L'analisi degli aplotipi ha confermato i risultati dei genotipi, gli aplotipi che includono l'allele T dello SNP rs6827359 aumentano il rischio di sviluppare obesità e avere problemi ossei.

[Tabella 1. Dati preliminari]

Metodi e analisi statistica:

Il progetto utilizzerà i dati di 2 coorti. Il progetto IDEFICS (<http://www.idefics.eu>) è un grande studio multicentrico sulle condizioni patologiche connesse a errati stili di vita e in particolare alla dieta, nei bambini, finanziato dalla UE (13). Una coorte di 16,224 bambini di origine europea (2-9 anni) è stata reclutata dalla popolazione generale di 8 nazioni europee (Belgio, Cipro, Estonia, Germania, Ungheria, Italia, Spagna e Svezia) tra il 2007 e il 2008. Il DNA è stato estratto da 4,678 campioni selezionati a caso dal campione complessivo, dopo stratificazione per nazione (19). Tutti i bambini con dati disponibili su genetica, BMI, circonferenza vita e fianchi, luogo di nascita e lingua parlata dai genitori, età e sesso saranno inclusi nella presente analisi (4,491 bambini, tra i quali solo 3.067 con dato della sonometria quantitativa - QUS - al calcagno disponibile; 20). L'OEC (<http://www.cuore.iss.it>) è una coorte di campioni selezionati random tra i residenti di tutte le 20 regioni italiane (4908 maschi, 4804 donne, 35-74 anni, con misure al baseline raccolte tra il 1998 e il 2002, con metodi paragonabili, standardizzati e con campioni biologici conservati, sia di siero che di buffy coats, a -196°C , 14). Entrambi i progetti hanno raccolto informazioni su peso, altezza, circonferenza vita e fianchi, trigliceridemia a digiuno, glucosio, insulina, creatinina, pressione arteriosa, rigidità ossea misurata al calcagno, informazioni dettagliate sulla dieta. Peso, altezza, circonferenze di vita e fianchi e pressione arteriosa sono stati misurati con procedure standardizzate. La QUS al calcagno è stata misurata con Lunar Achilles Insight second protocolli standard per adulti e bambini (20). Trigliceridemia a digiuno, glucosio, insulina e creatinina sono stati misurati con kit commerciali. Le analisi statistiche saranno effettuate con il software SAS (v.9.1.3). Sarà identificato il modello genetico con la migliore *goodness of fit* per ogni associazione genotipo-fenotipo, testando la deviazione della dominanza dall'additività in un modello di analisi di regressione che include il termine additivo (considerato come default) e il termine dominante. Verranno utilizzate analisi multivariate di regressione logistica e glm per verificare le associazioni tra fenotipi e varianti geniche. Per tenere in considerazione la sovrastima dell'effetto dovuto al grande numero di test

effettuati, i risultati verranno corretti per *FDR adjustment* attraverso la procedura del software SAS *PROC MULTTEST*. Verrà utilizzato il pacchetto Haplo.stats del software R per stimare le frequenze aplotipiche e per verificare le associazioni tra aplotipo e fenotipo. Gli aplotipi e le *posterior probabilities* correlate saranno quindi importate in SAS per verificare il miglior modello aplotipico e per correggere i risultati con l'*FDR adjustment* come per i genotipi. Per includere tutte le varianti che potenzialmente interagiscono, sarà calcolato il *p for interaction* dell'interazione tra geni, e gli SNP con interazione verranno replicati nello step successivo. Verrà calcolato uno score genetico per i fenotipi categorici. Verrà effettuata una *principal factor analysis* per combinare in 'fattori' le variabili correlate e usare i fattori significativi come variabile dipendente, e verificare così il pleiotropismo dei geni.

Risultati attesi, possibili problemi e soluzioni

Noi ci attendiamo di confermare negli adulti le associazioni trovate nel primo step tra le varianti dei geni della NMU e l'obesità e di estendere i risultati ad altri fenotipi regolati dal sistema nervoso centrale. Inoltre, ci aspettiamo di identificare associazioni tra i pattern di metilazione e l'obesità. I principali problemi potrebbero essere una potenza statistica non molto alta e il riscontro di un minor numero di SNP associati rispetto all'atteso. Il disegno dell'analisi di tipo step-by-step e il grande numero di fenotipi in studio, incrementato da quelli che includono più combinazioni tra le diverse variabili, aumentano la possibilità di trovare un risultato significativo. Noi ci aspettiamo che gli SNP più associati spieghino almeno lo 0.4% della varianza fenotipica; l'80% della potenza statistica, considerando l'ipotesi più conservativa (correzione di Bonferroni, su 25 varianti: $\alpha = 0.002$; assumendo che l'effetto di età e sesso sia solo del 5%) è ottenuta con 4500 individui. Il campione più piccolo in studio, su 3000 soggetti, ha una potenza simile, poiché basato su cinque SNP ($\alpha=0.01$). La varianza spiegata dall'interazione tra due SNP significativi è 0.17% e 0.26% nei due campioni. Noi ci aspettiamo di osservare risultati più forti per l'analisi della metilazione: il campione di 500 soggetti ha l'80% di potenza statistica necessario a spiegare il 2% della varianza di un tratto considerando il metodo di Bonferroni ($\alpha=0.006$ per 8 metilazioni, effetto di età e sesso =5%). L'analisi della potenza statistica delle varianti rare sarà effettuata successivamente, per contestualizzarla all'effettiva prevalenza delle varianti delle regioni associate.

Significatività e innovazione

La NMU è coinvolta nella regolazione di vari fenotipi, attraverso meccanismi non completamente noti. Alcune criticità sono state suggerite da modelli di topi transgenici e non sono ancora state risolte: quale sia il principale attore intermedio tra la NMU e l'effetto anoressizzante (trasmissione del segnale sia vagale che extravagale), quale sia il recettore della NMU coinvolto nella resistenza in insulinica, quali gli attori in comune tra pathway di massa grassa e massa ossea. Il progetto utilizzerà un *candidate pathway approach* per verificare le interazioni non-additive tra geni correlati nella loro funzione (l'effetto dovuto all'interazione genica potrebbe essere infatti una delle cause principali alla base del fenomeno della *missing heritability*), per cercare di comprendere le fasi non note e fornire biomarcatori più predittivi per la pianificazione del trattamento. Il fattore principale che conferisce originalità al progetto è l'uso di un disegno epidemiologico a più step, che inoltre studia nello stesso momento genotipi, aplotipi, epigenetica e varianti rare negli esoni, che potrebbero essere quindi analizzati anche congiuntamente.

Descrizione della complementarietà e sinergia del gruppo di ricerca

Il Dr. Gianfagna si occuperà della gestione del progetto con il suo expertise nell'epidemiologia genetica delle patologie cronic-degenerative, nelle analisi genetiche e nell'analisi statistica. Il Dr. Gianfagna lavorerà in collaborazione con il gruppo di ricercatori del Progetto Moli-sani, coinvolto in molti studi epidemiologici in epidemiologia genetica e ambientale, tra i quali i progetti IDEFICS (descritto in precedenza), MOLI-SANI (studio di coorte su 25,000 soggetti reclutati dalla popolazione generale per studiare l'effetto sulle patologie cardiovascolari e oncologiche delle interazioni tra geni e fattori correlati alla dieta), IMMIDIET (sulla migrazione tra paesi europei come modello di interazione tra geni e ambiente per lo studio del rischio cardiovascolare), IGIGI (le determinanti genetiche del rischio di infarto giovanile) e GENDIABE (determinanti genetiche della trombosi nel diabete mellito di tipo 2). In più, utilizzerà i laboratory del Parco Tecnologico di NEUROMED per le analisi genetiche. L'OEC è condotto dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS) in collaborazione con l'Associazione Nazionale Medici Cardiologi Ospedalieri (ANMCO). Il Dr. Gianfagna

lavorerà in stretta collaborazione con la Dr.ssa Donfrancesco del Centro Nazionale di Epidemiologia, Sorveglianza e Promozione della Salute dell'ISS. La Dottoressa si occuperà dell'armonizzazione tra i database, dell'estrazione delle sottocoorti di adulti da genotipizzare nell'OEC, del trasferimento dei campioni al Parco Tecnologico per le analisi genetiche e della cooperazione con il Dr. Gianfagna nell'analisi genetica dei campioni dell'OEC.

Bibliografia

1. Park MH et al. *Obes Rev* 2012;13:985-1000. PMID:22731928
2. Mitchell JD et al. *Br J Pharmacol* 2009;158:87-103. PMID:19519756
3. Peier AM et al. *Endocrinology* 2011;152:2644-54. PMID:21586559
4. Sato S et al. *Nat Med* 2007;13:1234-40. PMID:17873881
5. Hainerová I et al. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:5057-63. PMID:16984985
6. Manning AK et al. *Nat Genet* 2012;44:659-69. PMID:22581228
7. Richards JB et al. *Nat Rev Genet* 2012;13:576-88. PMID:22805710
8. Fox CS et al. *BMC Med Genet.* 2007;8 Suppl 1:S18-23. PMID:17903300
9. Gianfagna F et al, *Blood Transf.* 2012; Sup 4:S55
10. Driessler F et al. *J Mol Endocrinol* 2010;45:175-81. PMID:20660619
11. Kuehnen P et al. *PLoS Genet* 2012;8:e1002543. PMID:22438814
12. Eads CA et al. *Nucleic Acids Res* 2000;28:E32. PMID:10734209
13. Ahrens W et al. *Int J Obes (Lond)* 2011;35S:S3-15. PMID:21483420
14. Vanuzzo D et al. *G Ital Cardiol (Rome)* 2010;11:25S-30S. PMID:20879475
15. Bjornsson HT et al, *Trends Genet* 2004;20:350-8. PMID:15262407
16. Talens RP et al, *FASEB J* 2010;24:3135-44. PMID:20385621
17. Feinberg AP et al. *Sci Transl Med* 2010;2:49ra67. PMID:20844285
18. Johnson T et al. *Am J Hum Genet* 2011;89:688-700. PMID:22100073
19. Cugino et al. *Int J Obes (Lond)* 2013; doi:10.1038/ijo.2013.21
20. Sioen I et al. *Calcif Tissue Int* 2012;91:276-85. PMID:22907129

TIMETABLE

- a. Identificazione dei Tag-SNPs, impostazione dei protocolli di laboratorio (m. 1-3)
- b. Genotipizzazione dei campioni di IDEFICS (m.3-9)
- c. L'analisi delle associazioni tra genotipi/aplotipi e BMI (m. 9-10), altri fenotipi e fenotipi combinati
- d. Estrazione del DNA dei campioni dell'OEC (m. 5-11)
- e. Genotizzazione dei campioni dell'OEC (m. 12-15)
- f. Analisi delle associazioni tra genotipi/aplotipi e BMI e scrittura dell'articolo (m. 15-18)
- g. Analisi delle associazioni tra genotipi/aplotipi e resistenza insulinica, pressione sistolica, massa ossea e scrittura degli articoli correlati (19-25)
- h. Identificazione delle varianti rare e genotipizzazione nel sottogruppo caso-controllo (m. 22-24)
- i. Replicazione (m. 28-29)
- j. Analisi della metilazione (m.19-24)
- k. Analisi delle associazioni tra metilazione e fenotipi e scrittura dell'articolo (m. 25-27)
- l. Analisi delle associazioni tra varianti rare e fenotipi e scrittura dell'articolo (m. 29-31)
- m. Analisi delle associazioni tra genotipi/aplotipi e fenotipi combinati e scrittura dell'articolo (m. 32-34)
- n. Report del progetto (m. 12, 24, 36)

DELIVERABLES

- a. Genotipizzazione dei campioni di IDEFICS (m.10)
- b. Estrazione del DNA dai campioni OEC (m 12)
- c. Genotipizzazione dei campioni OEC (m.16)
- d. Lista delle varianti rare (m. 26)
- e. Genotipizzazione delle varianti rare nel sottogruppo caso-controllo (m. 28)
- f. Dati sulla genotipizzazione delle varianti rare (m.30)
- g. Lista delle aree CpG per l'analisi della metilazione (m. 19)

- h. Metilazione (m 24)
- i. Articoli (m. 18, 21, 24, 27, 31, 34)
- j. Reports (m. 12, 24, 36)

Milestones 18 mesi

- a. Identificazione dei tag-SNPs da genotipizzare nei geni prioritari (m 3)
- b. Identificazione degli SNPs da replicare nel campione di replicazione (m 10)
- c. Estrazione del DNA nel campione di replicazione (m 13)
- d. Lista delle variant rare su loci potenzialmente funzionali (m 14)
- e. Identificazione delle aree CpG nei geni candidati (m 18)
- f. Core papers (m 18)

Milestones 36 mesi

- a. Genotipizzazione delle varianti rare in un campione caso-controllo con fenotipi estremi (m 20)
- b. Replicazione dei risultati (m 28)
- c. Analisi della metilazione (m 30)
- d. Core papers (m 36)

[Figura 2. Gantt]

Strumenti e risorse disponibili

Il progetto sarà svolto presso il Parco Tecnologico di NEUROMED. Il Parco occupa una superficie di 50000 mq e ospita molti laboratori, gestiti da ricercatori senior che hanno una lunga esperienza nella ricerca scientifica. Le loro competenze includono la biologia cellulare e molecolare, la farmacologia sperimentale, gli studi epidemiologici e clinici, tutti argomenti affini alla presente application. La ricerca genomica e quella clinico-epidemiologica si complementano contribuendo alla comprensione dei meccanismi alla base delle malattie e di nuovi approcci farmacologici. I ricercatori hanno accesso a strumenti innovativi per la genetica e la biologia molecolare, tra i quali PCR real-time e piattaforme Illumina Hi-Scan per l'*high-throughput genotyping*, l'analisi della metilazione e il *new generation sequencing*. Sono state inoltre sviluppate tecniche analitiche per studi di genomica, usando microarray e PCR real time. Le facilities genetiche includono anche termociclatori, strumenti per l'elettroforesi, analizzatori di immagini, spettrofotometri, nefelometri, centrifughe, frigoriferi -80 °C e -20°C. Per le analisi statistiche è disponibile il software SAS (SAS Institute Inc. versione 9.1.3 per WINDOWS, Cary, NC: SAS Institute Inc. 1989).

Rilevanza translazionale e impatto nel Sistema Sanitario Nazionale (SSN)

Le analisi genomiche e epigenomiche permetteranno di identificare i geni coinvolti nel processo. L'identificazione dei meccanismi alla base offre suggerimenti per quanto riguarda i potenziali target sui quali poter intervenire o i biomarkers per la valutazione del rischio di malattia. L'analisi verrà effettuata nei bambini, dove l'impatto genetico è più determinante, tuttavia noi cercheremo di confermare il dato negli adulti, sui quali invece è più utile intervenire. Intanto si sta testando in clinica l'effetto degli analoghi della NMU per il trattamento delle patologie metaboliche. Questi analoghi tuttavia potrebbero avere effetti avversi sulla massa ossea. I markers genetici nella NMU e altri geni correlate al SNC potrebbero essere utili per pianificare i trattamenti delle patologie metaboliche e riconoscere i soggetti nei quali potrebbero verificarsi potenziali effetti avversi sui parametri ossei. Per concludere, approfondire la conoscenza sui geni connessi alla regolazione da parte del SNC di alcuni fenotipi potrebbe contribuire a identificare nuovi biomarcatori per la valutazione del rischio e la pianificazione del trattamento, come pure nuovi specifici bersagli per interventi preventivi o terapeutici.

BUDGET SINTETICO – FINANZIAMENTO A CARICO DEL MOH

VOCI DI SPESA	RIPARTIZIONE
---------------	--------------

	FINANZIAMENTO
Personale a Contratto (Personell-Researcher Contracts)	€ 103.550,00
Missioni (Travels)	€ 5.952,00
Attrezzature (Leasing-Affitto) (Equipment)	€ 0
Consumi (Consumables)	€ 185.164,76
Pubblicazioni, Convegni (Publication Costs)	€ 2.976,00
Elaborazione Dati (IT Services and Data Bases)	€ 0
Spese di Coordinamento (Coordination Costs)	€ 9.200,00
Spese Generali (Overheads)	€ 29.764,00
TOTALE	€ 336.606,76

BUDGET ANALITICO

COSTI	BUDGET TOTALE	COFINANZIAMENTI (**)	COSTI COMPLESSI VI A CARICO DEL MOH	UO1 IRCCS Istituto Neurologico Mediterraneo Neuromed COSTI A CARICO DEL MOH	UO2 Istituto Superiore di Sanità COSTI A CARICO DEL MOH
1 Personale a Contratto (staff)	€ 104.694,18	€ 104.694,18	NOT PERMITTED	NOT PERMITTED	NOT PERMITTED
2 Personale – nuovi contratti	€ 103.550	€ 0	€ 103.550	€ 72.000	€ 31.550
3. Attrezzature (Leasing-Affitto)	€ 0	€ 0	€ 0	€ 0	€ 0
4a. Consumi - materiali	€ 165.164,76	€ 0	€ 165.164,76	€ 165.164,76	€ 0
4b. Consumi – altro	€ 0	€ 0	€ 0	€ 0	€ 0
4c. Consumi - contratti a terzi	€ 20.000	€ 0	€ 20.000	€ 20.000	€ 0

4d. Consumi – costi connessi ai pazienti	€ 0	€ 0	€ 0	€ 0	€ 0
5. Elaborazione Dati	€ 0	€ 0	€ 0	€ 0	€ 0
6. Viaggi	€ 6.717	€ 0	€ 5.952	€ 5.952	€ 0
7. Costi delle pubblicazioni	€ 3.350	€ 0	€ 2.976	€ 2.976	€ 0
8. Overheads	€ 29.764	€ 0	€ 29.764	€ 26.609	€ 3.155
9. Costi per il coordinamento	€ 9.200	€ 0	€ 9.200	€ 9.200	NOT PERMITTED
Totale	€ 442.439,94	€ 104.694,18	€ 336.606,76	€ 301.901,76	€ 34.705

(**) Report the Co-Funding Contributor/s: Università dell'Insubria di Varese

FINANZIAMENTO MOH – UTILIZZO - UO1- Istituzione: IRCCS Istituto Neurologico Mediterraneo Neuromed

2. Nuovi contratti per ricercatori: N° contratti: 1 Mesi/persona 36 Biologo esperto 24000€/anno per 3 anni (=72000€). Il contratto del PI è ora cofinanziato
3. Attrezzature (Leasing-affitto): No
4a. Materiali: estrazione del DNA: 10000€ ; genotipizzazione (25 SNPs in 5,000 + 5 SNPs in 3000 per la replicazione) 100000€ Genotipizzazione di SNP rari (500 campioni) e replicazione (3.000) 25000€ Analisi della metilazione (500) e replicazione (3000) 30164,76€
4b. Altro: No
4c. Contratti a terzi: estrazione dei campioni dall'azoto liquido e trasporto, misurazioni dell'osteodensitometria nella fase di nuovo reclutamento (EPICOMED Research srl)
4d. Costi connessi ai pazienti: No
5. Elaborazione Dati: No
6. Viaggi: fino al 2% del costo totale per meeting tra le 2 unità e per la partecipazione a congressi
7. Costi delle pubblicazioni: fino all'1% per costi connessi alla pubblicazione degli articoli prodotti
8. Overheads: fino al 10%
9. Costi per il coordinamento: 3% per la Regione Molise

FINANZIAMENTO MOH – UTILIZZO – UO2- Istituzione: Istituto Superiore di Sanità

2. Nuovi contratti per ricercatori: N° contratti: 1 Mesi/persona 12 Expertise compenso per uno statistico 50% del tempo (31,550e) per il 2° anno
3. Attrezzature (Leasing-affitto): No
4a. Materiali: No
4b. Altro: No
4c. Contratti a terzi: No
4d. Costi connessi ai pazienti: No
5. Elaborazione Dati: No
6. Viaggi: No
7. Costi delle pubblicazioni: No
8. Overheads: fino al 10%

Riepilogo comunicazione

Prese in carico

Medico: Centi Domenica (1187071)

Risposta al messaggio	2014002631 - 15/05/2014 15:19
ID invio	2014003152
Data	03/06/2014 12:09
Stato	Inviata
Mittente	Molise (10123)
Destinatario	Ministero della Salute (10128)
Progetto	IG-2014-2354505 - Informativa Generica
Tipo	Informazioni
Oggetto	Progetti Finanziati Bando RF e GR 2011-2012 - nominativo Rappresentante Legale
Messaggio	In relazione all'oggetto, si comunica che il Rappresentante Legale che firmerà la Convenzione per il Progetto finanziato, è il Direttore Generale pro tempore per la Salute Dott. Antonio Lastoria CF LSTNTN71H22B519Y
Allegato	